

# ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

4 (144) 2014



ISSN 2226-2008

# ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

ЗАСНОВАНО У 1926 РОЦІ • ПОНОВЛЕНО У 1997 РОЦІ

## *Засновники*

Міністерство охорони здоров'я України

Одеський національний медичний університет

## *Головний редактор*

Академік НАМН України,  
лауреат Державної премії України  
В. М. ЗАПОРОЖАН

## *Редакційна колегія*

М. Л. Аряєв, В. В. Бабієнко, Ю. І. Бажора, В. С. Бітенський, В. О. Гельм-больдт, Л. С. Годлевський, В. В. Годован, М. Я. Головенко, А. Г. Гулюк, Б. С. Запорожченко, О. В. Запорожченко, В. Й. Кресюн (*заступник головного редактора*), О. О. Мардашко, А. Є. Поляков, В. О. Полясний, Я. В. Рожковський, Н. О. Романова (*відповідальний секретар*), В. О. Ситнікова, О. А. Шандра

## *Редакційна рада*

П.-А. Абрахамссон — Університетська клініка Лундського університету (Швеція), С. А. Андронаті — Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України (Одеса, Україна), В. В. Безруков — Інститут геронтології НАМН України (Київ, Україна), Г. М. Бутенко — Інститут генетичної і регенеративної медицини НАМН України (Київ, Україна), І. І. Гук — Віденський університет (Австрія), Я. Жанг — Інститут біомедичних технологій (Хунан, Китай), Ю. О. Зозуля — Інститут нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова НАМН України (Київ, Україна), А. Д. Клісарова — Варненський медичний університет (Болгарія), Г. В. Книшов — Інститут серцево-судинної хірургії НАМН України (Київ, Україна), М. П. Ландіні — Болонський університет (Італія), С. Б. Середенін — НДІ фармакології ім. В. В. Закусова РАМН (Москва, Росія), С. Д. Трахтенберг — Університет ім. Дж. Вашингтона (Вашингтон, США), Д. Уїтлі — Абердінський університет (Велика Британія), Р. Хусс — Мюнхенський університет (Німеччина), В. Чупіна — Університет «Овідіус» (Констанца, Румунія)



# ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

№ 4 (144) 2014

Науково-практичний журнал

**Адреса редакції:**

65082, Україна, Одеса,  
Валіховський пров., 2

**Телефони:**

(048) 723-74-24, (048) 728-54-58,  
(048) 723-29-63, (048) 719-06-40

**E-mail:**

odmeded@odmu.edu.ua

**Сайт:**

http://journal.odmu.edu.ua

Редактор випуску

**В. М. Попов**

Літературні редактори  
і коректори

**А. А. Гречанова**

**Р. В. Мерешко**

**Т. А. Пятковська**

**О. В. Сидоренко**

**О. В. Титова**

**К. М. Цвігун**

Художній редактор

**А. В. Попов**

Комп'ютерний дизайн,  
оригінал-макет

**В. М. Попов**

**А. В. Попов**

Фото на обкладинці —

**В. М. Попов**

*На фото:*

Чорне море

Поліграфічні роботи

**І. К. Каневський**

**М. Р. Мерешко**

Одеський медичний журнал

№ 4 (144) 2014

ISSN 2226-2008

Журнал зареєстровано  
в Міністерстві інформації України

Свідоцтво про реєстрацію

**КВ № 2992**

Передплатний індекс 48717

Підписано до друку 19.08.2014.  
Формат 60x84/8. Папір офсетний.

Обл.-вид. арк. 13,0

Тираж 200. Зам. 1776.

Видано і надруковано  
Одеським національним  
медичним університетом.

65082, Одеса, Валіховський пров., 2

Свідоцтво ДК № 668 від 13.11.2001



**Теорія та експеримент**

**Theory and Experiment**

## ЗМІСТ CONTENTS

ВПЛИВ НОВОГО ГІГІЄНИЧНОГО ЗАСОБУ  
НА ПРОЦЕСИ ПОСТПРОМЕНЕВОЇ РЕПАРАЦІЇ  
СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ  
У РОТОВІЙ ПОРОЖНИНІ ЩУРІВ  
Л. С. Кравченко, Ю. Г. Романова, А. О. Бас,  
М. А. Добровольський, С. В. Щербаков  
INFLUENCE OF NEW HYGIENIC DRUG  
ON THE PROCESSES OF POST X-RAY RESTORATION  
OF ORAL MUCOSA IN RATS  
L. S. Kravchenko, Yu. G. Romanova, A. O. Bas,  
M. A. Dobrovolsky, S. V. Shcherbakov ..... 5

ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНА ДІЯ  
МУКОАДГЕЗИВНИХ ПЛІВОК З ЛІЗОЦИМОМ  
НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ПОРОЖНИНИ РОТА  
ПІСЛЯ АПЛІКАЦІЙ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ  
А. П. Левицький, І. І. Романовська,  
С. С. Декіна, А. М. Овсепян,  
Т. В. Томіліна, Л. М. Хромагіна, О. Е. Кнава  
THERAPEUTIC-PROPHYLACTIC ACTION  
OF MUCOADHESIVE FILMS WITH LYSOZYME  
ON ORAL CAVITY MUCOSA AFTER  
LIPOPOLYSACCHARIDE APPLICATION  
A. P. Levytsky, I. I. Romanovska,  
S. S. Dekina, A. M. Ovsepyan,  
T. V. Tomilina, L. M. Chromagina, O. E. Knava ..... 9

АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ  
НОВИХ КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК  
МЕТАЛІВ З ЛИМОННОЮ КИСЛОТОЮ  
М. В. Матюшкіна, В. В. Годован,  
Л. М. Мудрик, Т. Л. Гридін  
ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF  
NEW CO-ORDINATION COMPOUNDS OF  
METALS WITH CITRIC ACID  
M. V. Matyushkina, V. V. Godovan,  
L. M. Mudrik, T. L. Grydina ..... 13



Одеса  
Одеський медуніверситет  
2014





МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДОКСОРУБІЦИН-ІНДУКОВАНОЇ ІМУНОСУПРЕСІЇ ІНДУКТОРОМ ЕНДОГЕННОГО ІНТЕРФЕРОНУ АМІКСИНОМ  
Є. П. Москвичов, Я. В. Рожковський

MECHANISMS OF REGULATION OF EXPERIMENTAL DOXORUBICIN-INDUCED IMMUNOSUPPRESSION OF ENDOGENOUS INTERFERON INDUCER AMIXIN

Ye. P. Moskvichov, Ya. V. Rozhkovsky ..... 18

МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СУДИННОГО РУСЛА ШКІРИ  
ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

О. І. Сирма, В. М. Скобеєва, В. О. Ульянов

MORPHOMETRIC CHARACTERISTIC OF SKIN VESSELS  
AFTER ADMINISTRATION OF SILVER NANOPARTICLES

O. I. Syrma, V. M. Skobeyeva, V. O. Ulyanov ..... 23

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ТКАНИНАХ КРОВІ ТА МОЗКУ  
ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПЕСТИЦИДАМИ  
ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ СИНТЕТИЧНИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ  
Я. А. Тарасенко

BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD AND BRAIN TISSUE  
UNDER CONDITIONS OF CHRONIC INTOXICATION WITH PESTICIDES  
AND THEIR CORRECTION BY SYNTHETIC ANTIOXIDANTS

Ya. A. Tarasenko ..... 28



## *Клінічна практика*

## *Clinical Practice*

ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА  
ПОСЛЕ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ РУКАВНОЙ РЕЗЕКЦИИ ЖЕЛУДКА

В. В. Грубник, В. П. Голляк, Р. С. Парфентьев, М. С. Кресюн

CHANGE OF LIPID AND CARBOHYDRATE METABOLISM  
AFTER THE SLEEVE GASTRECTOMY

V. V. Grubnik, V. P. Golliak, R. S. Parfentiev, M. S. Kresiun ..... 32

ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ ЯКОСТІ ЖИТТЯ ПІСЛЯ ПРОЦЕДУРИ  
ЕТАПНОЇ МОДИФІКАЦІЇ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНОГО СУБСТРАТУ  
У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ТРИВАЛО ПЕРСИСТУЮЧОЮ  
ФОРМОЮ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ

Ю. І. Карпенко, О. В. Горячий

ELECTROPHYSIOLOGICAL SUBSTRATE MODIFICATION AT CATHETER TREATMENT  
OF PERSISTENT ATRIAL FIBRILLATION: LONG-TERM RESULT

Yu. I. Karpenko, O. V. Goriachy ..... 37

ВПЛИВ ГРИБІВ РОДУ *CANDIDA* НА ПЕРЕБІГ ХРОНІЧНОГО ПРОСТАТИТУ  
У ХВОРИХ НА ДОБРОЯКІСНУ ГІПЕРПЛАЗІЮ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

Ф. І. Костєв, О. М. Зачеславський, О. В. Руденко, Р. Б. Чистяков, Л. І. Красиліук

INFLUENCE OF *CANDIDA* FUNGI ON CHRONIC PROSTATITIS COURSE  
IN PATIENTS SUFFERING FROM BENIGN PROSTATE HYPERPLASIA

F. I. Kostyev, O. M. Zacheslavskyi, O. V. Rudenko, R. B. Chistyakov, L. I. Krasilyuk ..... 44

ПОКАЗНИКИ ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ШКОЛЯРІВ,  
ХВОРИХ НА ТЯЖКУ БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

У. І. Марусик, С. І. Погребенник

INDICATORS OF HUMORAL IMMUNE SYSTEM OF  
SCHOOL-AGE CHILDREN WITH SEVERE BRONCHIAL ASTHMA

U. I. Marusyk, S. I. Pogrebennyk ..... 48



<p>ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІДНОВНОГО ЛІКУВАННЯ  ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ, ПОЄДНАНУ З ХРОНІЧНИМ  ОБСТРУКТИВНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ ЛЕГЕНІВ, ПРИ ЗАСТОСУВАННІ  НЕБУЛАЙЗЕРНОЇ БРОНХОЛІТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ НА ТЛІ ВЕРАПАМІЛУ  ТА СИДНОФАРМУ (ЗА ДАНИМИ КЛІНІКО-БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ)  Н. А. Мацегора, А. В. Місюна</p> <p>EFFICIENCY OF COMPLEX REHABILITATIVE TREATMENT OF  PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION IN COMBINATION  WITH CRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE WITH INCLUDING OF  NEBULAYZER OF BRONCHOLYTHIC THERAPY BASED ON VERAPAMILUM AND  SYDNOPHARMUM (ACCORDING TO CLINICAL-BIOCHEMICAL INDICES)  N. A. Matsegora, A. V. Misyuna</p>	52
<p>РЕЗУЛЬТАТИ ЗАСТОСУВАННЯ КОМПЛЕКСУ “ЛОКОМАТ”  У РЕАБІЛІТАЦІЇ ХВОРИХ ІЗ НАСЛІДКАМИ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ  У ВІДНОВНОМУ ПЕРІОДІ  Т. В. Мироненко, Л. В. Яковлева, Р. В. Канівець</p> <p>RESULTS OF APPLYING COMPLEX “LOKOMAT” IN REHABILITATION OF  PATIENTS WITH CONSEQUENCES OF ISCHEMIC STROKE  IN THE RECOVERY PERIOD  T. V. Myronenko, L. V. Yakovleva, R. V. Kanivets</p>	56
<p>ЕФЕКТИВНІСТЬ РІЗНИХ МЕТОДІВ ТЕРАПІЇ ЛЕЙКОПЛАКІЇ ШИЙКИ МАТКИ  Н. М. Настрадіна</p> <p>EFFICACY OF DIFFERENT METHODS OF TREATMENT OF CERVICAL LEUKOPLAKIA  N. M. Nastradina</p>	61
<p>АНАЛІЗ ХРОМОСОМНОЇ ПАТОЛОГІЇ У ПЛОДА  ЗА ДОПОМОГОЮ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЇ ГІБРИДИЗАЦІЇ <i>IN SITU</i>  НА ІНТЕРФАЗНИХ ЯДРАХ — ОБМЕЖЕННЯ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ  О. О. Степанов, Т. Е. Зерова-Любимова, С. В. Денисенко</p> <p>PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOME PATHOLOGY ON  INTERPHASE CELLS WITH FLUORESCENCE HYBRIDIZATION <i>IN SITU</i> —  METHOD'S LIMITATION  O. O. Stepanov, T. E. Zerova-Lyubimova, S. V. Denysenko</p>	65
<p>ЧАСТОТА ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ <i>GSTM1</i> І <i>GSTT1</i>  У ХВОРИХ НА МІОПІЮ  Н. А. Ульянова, О. О. Сметюк, Ю. І. Бажора</p> <p>FREQUENCY OF POLYMORPHIC GENE VARIANTS <i>GSTM1</i> AND <i>GSTT1</i>  IN PATIENTS WITH MYOPIA  N. A. Ulyanova, O. O. Smetyuk, Yu. I. Bazhora</p>	70
<p>КЛІНІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ НОВОГО МЕТОДУ ПРОФІЛАКТИКИ  ТА ЛІКУВАННЯ ПРОТЕЗНИХ СТОМАТИТІВ  ЗА ПОВНОЇ ВІДСУТНОСТІ ЗУБІВ  Л. Д. Чулак, О. А. Зверхановський</p> <p>CLINICAL SUBSTANTIATION OF A NEW METHOD  FOR PREVENTION AND TREATMENT OF PROSTHETIC STOMATITIS  WITH EDENTULOUS JAWS  L. D. Chulak, O. A. Zverkhanovskyy</p>	74
<p>РОЗПОДІЛ ПОЛІМОРФІЗМУ E23K ГЕНА <i>KCNJ11</i>  У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ  С. А. Штандель, Т. М. Тихонова</p> <p>GENE <i>KCNJ11</i> E23K POLYMORPHISM  AT DIABETES MELLITUS PATIENTS  S. A. Shtandel, T. M. Tykhonova</p>	77





ЛАРИСА МИТРОФАНОВНА ЯКИМОВА LARISA MITROFANOVNA YAKIMOVA .....	81
---	----

**На допомогу авторам**

«ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ». ВІДОМОСТІ ПРО ВИДАННЯ .....	83
ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ СТАТЕЙ ДО «ОДЕСЬКОГО МЕДИЧНОГО ЖУРНАЛУ» .....	83
ПОРЯДОК РЕЦЕНЗУВАННЯ РУКОПИСІВ НАУКОВИХ СТАТЕЙ, ЯКІ НАДХОДЯТЬ ДЛЯ ПУБЛІКАЦІЇ В РЕДАКЦІЮ «ОДЕСЬКОГО МЕДИЧНОГО ЖУРНАЛУ» .....	85

**Information for Authors**

“ODES'KIJ MEDIČNIJ ŽURNAL” (“THE ODESSA MEDICAL JOURNAL”). INFORMATION ABOUT EDITION .....	86
THE MANUAL OF ARTICLE STYLE FOR “ODES'KIJ MEDIČNIJ ŽURNAL” (“THE ODESSA MEDICAL JOURNAL”) .....	86
MANUSCRIPTS REVIEWING ORDER .....	88

**ДО ВІДОМА АВТОРІВ**

Публікація матеріалів у «Одеському медичному журналі» і журналі «Досягнення біології та медицини», які видаються Одеським національним медичним університетом, платна. Оплата здійснюється після рецензування статей і схвалення їх до друку, про що авторів повідомляють додатково.

**З питань сплати за публікацію статей та довідок про їх надходження й опрацювання просимо звертатися до Віри Григорівни Ліхачової за тел. +38 (048) 728-54-58 (р.), +38 (097) 977-23-31 (м.), e-mail: vera@odmu.edu.ua.**

Копію квитанції про сплату слід надсилати поштою на адресу: Одеський національний медичний університет, редакція журналу (назва журналу), Валіховський пров., 2, м. Одеса, 65082 — або передавати на факс +38 (048) 723-22-15 для В. Г. Ліхачової.

**До відома авторів! Постановами президії ВАК України № 1-05/2 від 27 травня 2009 р. та № 1-05/5 від 31 травня 2011 р. «Одеський медичний журнал» включено до переліку видань, у яких можуть публікуватися основні результати дисертаційних робіт з медицини, біології та фармації.**

Друкується за рішенням Вченої ради Одеського національного медичного університету  
Протокол № 10 від 26.05.2014 р.

Odes'kij medičnij žurnal [Text] : science and practice journal /  
founders the Ministry of Health of Ukraine, the Odessa National  
Medical University. – 1997 ; Odessa : ONMedU, 2014  
2014 N 4 (144). – 200 copies  
ISSN 2226-2008

© Одеський медичний журнал, 2014





УДК 616.31:616.311:613

Л. С. Кравченко, Ю. Г. Романова, А. О. Бас,  
М. А. Добровольський, С. В. Щербаков

## ВПЛИВ НОВОГО ГІГІЄНИЧНОГО ЗАСОБУ НА ПРОЦЕСИ ПОСТПРОМЕНЕВОЇ РЕПАРАЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ У РОТОВІЙ ПОРОЖНИНІ ЩУРІВ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.31:616.311:613

Л. С. Кравченко, Ю. Г. Романова, А. А. Бас, Н. А. Добровольський, С. В. Щербаков  
ВЛИЯНИЕ НОВОГО ГИГИЕНИЧЕСКОГО СРЕДСТВА НА ПРОЦЕССЫ ПОСТЛУЧЕВОЙ  
РЕПАРАЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ КРЫС

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

На основе экспериментальных исследований выявлена эффективность нового средства по уходу за полостью рта, которое при местном применении у облученных крыс оказывало благоприятное влияние на течение лучевого стоматита. Новый гель способствовал быстрой ликвидации проявлений оксидантного стресса, нормализовал активность антиоксидантных ферментов. Местное применение нового геля ускоряло ранозаживление и репарацию слизистой оболочки полости рта после облучения.

**Ключевые слова:** лучевое облучение, слизистая оболочка, воспаление, антиоксидантная активность, репарация.

UDC 616.31:616.311:613

L. S. Kravchenko, Yu. G. Romanova, A. O. Bas, M. A. Dobrovolsky, S. V. Shcherbakov  
INFLUENCE OF NEW HYGIENIC DRUG ON THE PROCESSES OF POST X-RAY RESTORATION  
OF ORAL MUCOSA IN RATS

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

In spite of high quality of methodical and technical means of X-ray therapy, X-ray stomatitis development is the basic problem in management of anticancer therapy. It takes place in patients who had X-ray therapy associated with cancer at the region of head and neck. And prophylaxis and medical treatment of radiation defeats are not always effective.

**Purpose** of this research is studying the effect of a new agent for the oral care on the level of biochemical markers of inflammation and restoration processes in the oral mucosa under conditions of X-ray stomatitis.

**Materials and methods.** Experiments were conducted on 50 white rats exposed to the rays AGAT-R1 under doses of 10, 15 and 20 Gy. A clinical picture of X-ray stomatitis in animals and influence of the new hygienic agent on the biochemical indices of inflammation, peroxidation, antioxidant protection of the oral mucosa have been studied.

### Results

1. With local action on oral tissues at X-ray stomatitis in rats, the new hygienic agent improved quick disappearance of irradiation oxidative stress and normalized activity of antioxidant enzymes activity.

2. Under experiment conditions the new gel had a local protective action on the course of erosive-ulcerous X-ray stomatitis and assisted in cicatrization of oral mucosa.

3. The obtained results indicate the perspectiveness of the new agent application for the oral cavity in case of medical treatment of erosive-ulcerous elements of X-ray injury of the oral mucosa.

**Key words:** X-ray irradiation, oral mucosa, inflammation, antioxidant protection, reparation.

Незважаючи на доскона-  
лість методичного та технічно-  
го арсеналу променевої тера-  
пії, розвиток променевого сто-  
матиту у хворих, які зазнали

опромінення з приводу зло-  
якісних захворювань у ділянці  
голови та шиї, є одним з ос-  
новних обмежень, що заважає  
проведенню ефективного про-

типухлинного лікування. За-  
соби профілактики та лікуван-  
ня радіаційних уражень слизо-  
вої оболонки порожнини рта  
(СОПР), які включають анти-



бактеріальні, анальгетичні, рано-загоювальні препарати, на жаль, не завжди виявляють достатньо ефективну дію [1; 2]. Указані обставини стали стимулом для розробки та вивчення дії нового гігієнічного засобу для порожнини рота у вигляді гелю на основі апіпродуктів й амарантової олії при лікуванні радіаційних уражень СОПР при променевому стоматиті.

**Мета** даного дослідження — вивчення впливу новоствореного засобу для догляду за порожниною рота на основі апіречовин і адаптогену рослинного походження на рівень біохімічних маркерів запалення та репараційні процеси у слизовій оболонці порожнини рота в умовах променевого стоматиту.

### **Матеріали та методи дослідження**

Експерименти проведені на 50 білих щурах-самцях масою 180–200 г. Радіаційне опромінення проводили за допомогою установки АГАТ-Р1 (Росія). Загальна опромінювальна доза в ділянці голови щурів становила 10, 15 і 20 Гр. Тварин усіх досліджуваних груп опромінювали одночасно, після чого утримували в тих же умовах, що і неопромінених щурів контрольної групи. Спостереження за тваринами проводили щодня протягом 30 діб після опромінення. Оцінювали загальний стан, рухову активність, динаміку маси тіла, стан СОПР.

При оцінці уражень СОПР опромінених тварин реєстрували колір, вологість, наявність набряку, ерозій і виразок.

Усі тварини були розподілені на 5 груп:

— перша група — біологічний контроль (тварини, яких не опромінювали);

— друга група — опромінення загальною дозою 10 Гр;

— третя група — опромінення дозою 15 Гр;

— четверта група — опромінення дозою 20 Гр;

— п'ята група — опромінення дозою 10 Гр і лікування із місцевим застосуванням нового гелю.

Тваринам дослідної п'ятої групи з першого дня після опромінення протягом 12 днів щодня двічі на день експозицією 10 хв на уражені ділянки СОПР накладали ватний тампон з лікувальним гелем, до складу якого входили біологічно активні речовини продуктів бджільництва (прополіс і віск із забрусу) тощо.

На 10, 15, 20-й день експерименту щурів виводили з досліді шляхом тотального кровопускання з серця під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Відокремлювали слизову оболонку щоки, гомогенізати якої отримували, центрифугуючи на центрифугі РС-6 при 3000 об./хв протягом 15 хв при температурі +4 °С. У гомогенатах слизової оболонки визначали рівень біохімічних маркерів запалення: концентрацію малонового діальдегіду (МДА) тіобарбітуровим методом [3], активність кислоти фосфатази (КФ) за методом О. А. Bessay et al. у модифікації А. П. Левицького [4]. Стан фізіологічної антиоксидантної системи оцінювали за активністю каталази (К) [5] і супероксиддисмутази (СОД) [6].

Результати експерименту обробляли статистично з використанням критеріїв вірогідності розбіжностей за Ст'юдентом.

### **Результати дослідження та їх обговорення**

Щури, опромінені дозою 20 Гр, з першого дня відмов-

лялися від їжі, значно втрачали у масі і гинули протягом 1–3 днів. У ротовій порожнині тварин спостерігався розвиток гнійно-некротичного стоматиту.

Тварини, які отримали дозу 15 Гр, з першого дня були пригнічені, малорухомі, відмовлялися від їжі. При огляді порожнини рота визначалася дифузна гіперемія зубоясенного краю біля різців нижньої щелепи. Більшість тварин на 3–5-ту добу гинули. У тих, що залишилися живими, на 5-ту добу після опромінення визначалася синюшність СОПР у ділянці бокових вуздечок нижньої губи, спостерігалася слинотеча. На 6–7-му добу явища променевого стоматиту посилювалися. Слизова оболонка у ділянці ясен, щік ротової порожнини була блідою з синюшним відтінком, пухкою та набряклою. На язичі фіксувалися осередки деепітелізації, які з кожним днем збільшувалися за формою і розміром. До 8-ї доби тварини були пригнічені, не їли, слизова оболонка ясен і щік була блідою, набряклою, виділялося дуже мало стимульованої в'язкої слини. При зондуванні слизової оболонки визначалася кровоточивість. У ділянці порожнини рота спостерігався вогнищевий і зливний епітеліт, що характеризувався наявністю плівок брудно-сірого кольору, при знятті яких оголювалися кровоточиві ерозії. Тварини гинули протягом 8–9 діб після опромінення.

У щурів, які отримали опромінення дозою 10 Гр, клінічна картина променевого стоматиту проявлялася вже на 1-шу добу. Загальний стан тварин був пригніченим. Половина тварин були малорухомими і відмовлялися від прийому їжі. При огляді порожнини рота відзначалася дифузна гіпер-





емія зубоясенного краю біля різців нижньої щелепи. На 3-тю добу пригнічення рухової активності рееструвалося у більшості тварин (70 % щурів). На СОПР у 30 % тварин утворилися ерозії та виразки. До 5-ї доби ерозивно-виразкові ураження СОПР виявлялися у 80–100 % тварин. Слизова оболонка ясен, щік була блідою, набряклою, виділялася дуже в'язка слина. Клінічна картина вираженого ерозивно-виразкового стоматиту зберігалася у 60 % тварин до 15-ї доби після опромінення. Вираженість клінічної картини променевого стоматиту почала зменшуватися на 18–19-ту добу після опромінення, помічалася відновлення цілісності епітелію слизової оболонки, її кольору (блідо-рожевого) та вологості. Покращання загального стану, збільшення маси тіла у тварин наставало до 20-ї доби.

Слід зазначити, що експериментальна модель формування променевого стоматиту при опроміненні дозою 10 Гр надала можливість тривалий час спостерігати динаміку його клінічної картини, тому визначення дії новоствореного засобу для догляду за порожниною рота ми проводили, використовуючи цю модель променевого стоматиту.

За результатами нашого дослідження, застосування новоствореного гелю для порожнини рота суттєво впливало на загальні та місцеві прояви радіаційного опромінення щурів дозою 10 Гр.

Ефективність нового засобу підтверджено порівняльною оцінкою місцевих проявів променевого стоматиту: при лікуванні тварин практично не визначалися зливні ерозії та виразки СОПР, тимчасом як у контрольних тварин на 5–10-ту добу вони фіксувалися у 50–

70 % випадків. У тварин на 10–15-ту добу після опромінення дозою 10 Гр СОПР була блідою, сухою, набряклою, зі зливними ерозіями та плівчастим епітеліітом. Водночас у лікованих тварин явища вогнищового радіоепітелііту спостерігалися в 10–30 % випадків, відмічалася повне відторгнення плівок з появою чистої рожевої СОПР. На 12–15-ту добу у групі лікованих щурів стан СОПР повністю нормалізувався, а у контрольній групі у цей час тривало відторгнення плівок й очищення ерозій, що свідчило про початок процесів відновлення.

Опромінення щурів призвело до змін біохімічних показників у СОПР. Отримані нами результати біохімічних досліджень у слизовій оболонці щок у тварин із променевим стоматитом і після лікування новим засобом засвідчили, що опромінення викликало значні зміни показників вільнорадикального окиснення й антиоксидантної активності: вміст МДА підвищився в 1,65 разу (на 10-ту добу), а активність ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ) — каталази і СОД — знизилася більш ніж у 1,5 рази. У цих умовах застосування новоствореного гелю сприяло нормалізації показників перекисного окиснення ліпідів й активації системи АОЗ.

Активність маркерного ферменту запалення — КФ у щурів із променевим стоматитом підвищувалася у середньому втричі, при лікуванні виявлялося менш виражене її підвищення, що свідчило про більш значні запальні явища у нелікованих тварин.

Застосування нового гелю, напевно, забезпечуючи ліквідацію проявів оксидативного стресу в опромінених тварин, як наслідок, стало одним із

факторів сприяння швидкому перебігу процесів постпроменевої репарації та менш уразливих проявів променевого стоматиту. Найбільш виражені зміни СОПР у вигляді ерозій і виразок у 50 % тварин спостерігалися через 10 діб після опромінення, при цьому фіксувалося проникнення мікроорганізмів у поверхневий шар з його деструкцією й оголенням. Ерозивні зміни в СОПР мали менш виражений характер у тварин, яким проводили аплікації новоствореним засобом, ніж у контрольних. На 12–15-ту добу експерименту у лікованих тварин відзначено повне відновлення структури СОПР, тимчасом як у тварин контрольної групи зберігалися явища променевого ураження до 19–20-ї доби (табл. 1).

Результати досліджень свідчать про те, що новий гігієнічний засіб справляє стимулювальну дію на процеси регенерації уражених ділянок СОПР при променевому стоматиті, скорочує термін їх загоювання, що, можливо, пов'язано з пригніченням перекисного окиснення ліпідів й активацією АОЗ.

## Висновки

1. У разі локальної дії на тканини ротової порожнини при променевому стоматиті у щурів новий гігієнічний засіб швидше забезпечував ліквідацію проявів оксидативного стресу внаслідок опромінення і нормалізовував активність антиоксидантних ферментів.

2. В умовах експерименту новий гель справляв локальну захисну дію на перебіг ерозивно-виразкового променевого стоматиту і сприяв загоюванню ран слизової оболонки порожнини рота.

3. Отримані результати вказують на перспективність за-



**Вплив лікувального гелю на біохімічні показники  
слизової оболонки щоки щурів при променевому стоматиті**

Показник	Група тварин	До опромінення	Після опромінення, діб		
			10	15	20
МДА, мкмоль/г	Контроль, n=8	24,80±4,80	39,60±5,60 p <sub>1</sub> <0,05	34,20±3,80 p <sub>1</sub> >0,05	33,40±4,10 p <sub>1</sub> >0,05
	Лікування, n=8	25,10±5,00	32,30±4,20 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	29,00±5,10 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	27,60±3,20 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Активність КФ, нмоль/(с·г)	Контроль, n=8	1,54±0,38	4,87±1,06 p <sub>1</sub> <0,05	4,40±0,62 p <sub>1</sub> <0,05	4,20±1,22 p <sub>1</sub> <0,05
	Лікування, n=8	1,48±0,24	3,02±0,71 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	2,48±0,68 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,05	2,16±0,72 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Активність СОД, ум. од.	Контроль, n=8	1,04±0,67	0,66±0,32 p <sub>1</sub> >0,05	0,70±0,40 p <sub>1</sub> >0,05	0,82±0,50 p <sub>1</sub> >0,05
	Лікування, n=6	1,12±0,58	0,88±0,47 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	0,98±0,52 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	1,08±0,60 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Активність каталази, мк-кат/г	Контроль, n=8	41,20±3,08	26,40±2,98 p <sub>1</sub> >0,05	28,24±3,00 p <sub>1</sub> <0,05	31,60±2,80 p <sub>1</sub> <0,05
	Лікування, n=6	38,60±2,82	30,40±2,66 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	32,60±3,04 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	37,40±2,54 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Антиоксидантно- прооксидантний індекс	Контроль, n=8	16,6	6,6	8,2	9,4
	Лікування, n=6	15,0	9,4	11,2	13,5

*Примітка.* p<sub>1</sub> — показник вірогідності до опромінення; p<sub>2</sub> — показник вірогідності між нелікованими та лікованими тваринами.

стосування нового засобу для догляду за порожниною рота при лікуванні ерозивно-виразкових елементів унаслідок променевого ураження слизової оболонки порожнини рота.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Воробьев Ю. М. Лучевая терапия злокачественных опухолей челюстно-лицевой области и ее перспективы / Ю. М. Воробьев // *Стоматология*. – 2003. – Т. 82, № 1. – С. 75–77.

2. Васин М. В. Средства профилактики и лечения лучевых поражений / М. В. Васин. – М., 2011. – 416 с.

3. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии*. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.

4. Левицкий А. П. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны / А. П. Левицкий, А. И. Марченко, Т. Л. Рыбак // *Лабораторное дело*. – 1973. – № 10. – С. 624–625.

5. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, Н. Т. Майорова, К. Е. Токарев // *Лабораторное дело*. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

6. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // *Лабораторное дело*. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

#### REFERENCES

1. Vorobyov Yu.M. X-ray therapy of malignant tumors of maxillofacial area and its perspectives. *Stomatologiya* 2003; 82 (1): 75-77.

2. Vasin M.V. Means of prevention and treatment of X-ray diseases. Moscow, 2011, 416 p.

3. Stalnaya I.D., Garishvili T.G. Malonic aldehyde determination method with the help of thiobarbituric acid. *Sovremennye metody v biokhimii*. Moscow, Medicine, 1977, p. 66-68.

4. Levitskiy A.P., Marchenko A.I., Rybak T.L. Coparative evaluation of the three methods of determination of saliva phosphatase activity. *Laboratornoye delo* 1973; 10: 624-625.

5. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova N.T., Tokarev K.E. Catalase activity determination metod. *Laboratornoye delo* 1988; 1: 16-18.

6. Cheviri S., Chaba I., Sekey Y. Role of superoxidedismutase in the oxidative processes of the cell and the method of its determination in the biologic material. *Laboratornoye delo* 1985; 11: 678-681.

Надійшла 15.05.2014



А. П. Левицький<sup>1</sup>, І. І. Романовська<sup>2</sup>, С. С. Декіна<sup>2</sup>,  
А. М. Овсепян<sup>2</sup>, Т. В. Томіліна<sup>3</sup>, Л. М. Хромагіна<sup>1</sup>, О. Е. Кнава<sup>1</sup>

## ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНА ДІЯ МУКОАДГЕЗИВНИХ ПЛІВОК З ЛІЗОЦИМОМ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ПОРОЖНИНИ РОТА ПІСЛЯ АПЛІКАЦІЙ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ

<sup>1</sup> ДУ «Інститут стоматології НАМН України», Одеса, Україна,

<sup>2</sup> Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України,  
Одеса, Україна,

<sup>3</sup> Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

УДК 577.15(088.8)

А. П. Левицкий<sup>1</sup>, И. И. Романовская<sup>2</sup>, С. С. Декина<sup>2</sup>, А. М. Овсепян<sup>2</sup>, Т. В. Томилина<sup>3</sup>,  
Л. Н. Хромагина<sup>1</sup>, О. Э. Кнава<sup>1</sup>

## ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МУКОАДГЕЗИВНЫХ ПЛЕНОК С ЛИЗОЦИМОМ НА СЛИЗИстую ОБОЛОЧКУ ПОЛОСТИ РТА ПОСЛЕ АППЛИКАЦИЙ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

<sup>1</sup> ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса, Украина,

<sup>2</sup> Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, Одесса, Украина,

<sup>3</sup> Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Исследованы медико-биологические свойства мукоадгезивных пленок (МАП) комплексного действия на основе криогеля поливинилового спирта с иммобилизованным лизоцимом и консервантами. Показано, что аппликация липополисахарида на слизистые оболочки полости рта крыс линии Вистар вызывает развитие воспаления, дисбиоза, снижение антиоксидантной защиты и содержания гиалуроновой кислоты. Установлено, что МАП комплексного действия с включенными лизоцимом, хлоргексидина биглюконатом и этилендиаминтетраацетатом способствуют снижению уровня уреазы — маркера микробной обсемененности слизистой оболочки щеки крыс на 50 %. Благодаря наложению на слизистые оболочки полости рта крыс пленок, содержащих лизоцим, увеличивается содержание гиалуроновой кислоты и снижается степень дисбиоза и воспаления.

**Ключевые слова:** слизистая оболочка полости рта, мукоадгезивные пленки, лизоцим, гиалуроновая кислота, ферменты.

UDC 577.15(088.8)

A. P. Levytskyi<sup>1</sup>, I. I. Romanovska<sup>2</sup>, S. S. Dekina<sup>2</sup>, A. M. Ovsepyan<sup>2</sup>, T. V. Tomilina<sup>3</sup>, L. M. Khromagina<sup>1</sup>, O. E. Knava<sup>1</sup>

## THERAPEUTIC-PROPHYLACTIC ACTION OF MUCOADHESIVE FILMS WITH LYSOZYME ON ORAL CAVITY MUCOSA AFTER LIPOPOLYSACCHARIDE APPLICATION

<sup>1</sup> SE "The Institute of Stomatology NAMS of Ukraine", Odessa, Ukraine,

<sup>2</sup> O. V. Bogatsky Physical-Chemical Institute NAS of Ukraine, Odessa, Ukraine,

<sup>3</sup> The Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

**Introduction.** Mucoadhesive films, containing biologically active substance, have some advantages over the other dosage forms, because they provide long-term local action of medicinal means with usage of minimal quantity of acting substance. Formerly we had shown the effectiveness of mucoadhesive films (MAF) with immobilized lysozyme usage, possessing the antiinflammatory and antibacterial effect on the rats oral cavity mucous membrane (OCMM) after application of bee venom.

**Materials and methods.** Experiments were conducted on Wistar rats. In the homogenates of OCMM the elastase activity, malonic dialdehyde and hyaluronic acid content, urease, lysozyme and catalase activity were measured; the disbiosis and antioxidative level were determined.

The results of investigation were mathematically treated.

**Results and conclusions.** The medicobiologic properties of MAF based on polyvinyl alcohol cryogel with immobilized lysozyme and preservatives of complex action were investigated. It was shown that application of lipopolysaccharide on oral cavity mucous membranes induced inflammation and disbiosis, decreasing antioxidant defence and hyaluronic acid level. It was established that MAF with entrapped lysozyme, chlorhexidine bigluconate and ethylenediamine tetraacetate promotes 50% decrease of urease level-marker of microbial dissemination of rats cheek's mucous membrane. Application on rats' OCMM of lysozyme-containing films increases the hyaluronic acid content and decreases both disbiosis and inflammation degree.

**Key words:** oral cavity mucous membrane, mucoaghesive films, lysozyme, hyaluronic acid, enzymes.



## Вступ

Мукоадгезивні плівки (МАП), до складу яких входять біологічно активні речовини, мають низку переваг перед іншими лікарськими формами, оскільки забезпечують тривалий локальний вплив лікувального засобу з використанням мінімальної кількості діючої речовини [1; 2].

Раніше нами показано ефективність використання МАП з іммобілізованим лізоцимом, яким притаманна протизапальна й антибактеріальна дія на слизову оболонку порожнини рота щурів після аплікацій бджолиної отрути [3].

**Мета** роботи — порівняльне вивчення лікувально-профілактичної дії МАП на основі кріогелю полівінілового спирту з іммобілізованим лізоцимом і МАП, що містять антисептик (хлоргексидину біглюконат), хелатор (етилендіамінтетраацетат, ЕДТА) або їх комбінацію, після впливу кишкового ендотоксину (ліпополісахарид, ЛПС). Вибір ЛПС був зумовлений тим, що в патогенезі патологічних процесів у тканинах порожнини рота вирішальну роль відіграє мікробний фактор, який реалізує свою патогенну дію за рахунок токсинів, серед яких найефективнішим є ЛПС [4; 5].

### Матеріали та методи дослідження

Плівки кріогелю полівінілового спирту містили 1 мг лізоциму білка курячого яйця з активністю 20 000 од./мг ("Appli-Chem", Бельгія). Для порівняння були виготовлені МАП, що містять хелатор (ЕДТА; 0,01 %), МАП з антисептиком хлоргексидину біглюконатом (ХГБГ; 0,005 %) і МАП комплексної дії, що містять лізоцим (1 мг) сумісно з ЕДТА і ХГБГ у тих же співвідношеннях. Концентрації ЕДТА і ХГБГ у плівках відповідали загальноприйнятій за вмістом консервантів у фармацевтичних препаратах [6]. Досліди були

проведені на 30 щурах лінії Вістар (самці, вік 12 міс., середня жива маса (387±12) г), розділених на шість груп: 1-ша — норма (інтактна), 2-га — контроль (без лікування), 3-тя—6-та групи — щури, яким наносили на слизову оболонку порожнини рота (СОПР) плівки, що містять досліджувані речовини: 3-тя — лізоцим, 4-та — ЕДТА, 5-та — ХГБГ, 6-та — комбінацію всіх трьох сполук.

Попередньо всі щури 2–6-ї груп отримували на СОПР аплікації 0,2 мл гелю з ЛПС у концентрації 38,5 мкг/мл, що відповідає дозі ≈ 30 мкг/кг. Через 30 хв після нанесення гелю з ЛПС здійснювали аплікацію МАП на СОПР.

Декапітували тварин через 24 год під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання із серця, вирізали слизові оболонки ясен і щоки в місцях накладення МАП.

У гомогенатах СОПР (20 мг/мл 0,05 М трис-НС1-буфера, рН 7,5) визначали рівень маркерів запалення [7]: активність еластази і вміст малонового діальдегіду (МДА), показник мікробного обсіменіння — активність мікробного ферменту уреазы [8], показник неспецифічного імунітету — активність лізоциму [8] й активність антиоксидантного ферменту каталази [7]. За співвідношенням відносних активностей уреазы і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу за Левицьким [8], а за співвідношенням активності каталази та вмісту МДА — антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) [7]. Крім того, у гомогенаті ясен визначали вміст гіалуронової кислоти [9].

Результати досліджень обробляли статистично [10].

### Результати дослідження та їх обговорення

У табл. 1 подано результати визначення у слизовій оболонці порожнини рота активності еластази. З цих даних вид-

но, що і в яснах, і в щоці активність еластази при дії ЛПС вірогідно зростає. Аплікація МАП на ясна незначно впливає на цей показник, незалежно від виду агента у складі плівки. Аплікація МАП на слизову оболонку щоки вірогідно (на 14 %) знижує активність еластази, причому істотної різниці між окремими діючими агентами не виявлено.

Результати визначення активності уреазы, маркера мікробного обсіменіння показали, що рівень ензиму при дії ЛПС зростає більше ніж удвічі, а під впливом МАП дещо ( $p>0,3$ ) знижується в яснах, а також вірогідно зменшується у слизовій оболонці щоки при використанні МАП комплексної дії — на 50 % (див. табл. 1).

У табл. 1 подані також результати визначення активності лізоциму, що відображають рівень неспецифічного імунітету. Як видно з даних таблиці, ЛПС знижує цей показник у 2,4 разу в яснах і в 3,6 разу в щоці. Аплікація МАП у всіх випадках вірогідно підвищує даний показник у яснах, але незначно впливає на знижену активність лізоциму в слизовій оболонці щоки. Істотної різниці в дії різних агентів не виявлено.

При дослідженні активності каталази в СОПР щурів після послідовних аплікацій ЛПС і МАП (див. табл. 1) виявлено, що ЛПС проявляє лише тенденцію до зниження активності ензиму, яка незначно змінюється під впливом використаних МАП; але при дії МАП, що містить лізоцим, активність каталази в яснах підвищується більшою мірою (однак  $p>0,05$ ).

У табл. 2 наводяться результати визначення в СОПР щурів після аплікації ЛПС і МАП вмісту МДА, що також є біохімічним маркером запалення [7].

Як видно з цих даних, ЛПС підвищує рівень МДА, особливо у щоці, однак аплікація плівок проявляє лише тенденцію до зниження даного показника.





**Вплив мукоадгезивних плівок на активність ферментів у слизових оболонках порожнини рота щурів після аплікацій ліпополісахариду**

Група	Еластаза, нкат/кг		Уреаза, мк-кат/кг		Лізоцим, од./кг		Каталаза, мкат/кг	
	СО ясен	СО щоки	СО ясен	СО щоки	СО ясен	СО щоки	СО ясен	СО щоки
1. Норма (без аплікації)	32±2	31±2	0,34±0,09	0,82±0,09	322±26	302±26	7,64±0,55	8,13±0,73
2. ЛПС (контроль)	43±3 p<0,05	40±1 p<0,01	0,81±0,10 p<0,01	1,87±0,10 p<0,001	134±17 p<0,001	83±9 p<0,001	6,92±0,58 p>0,3	7,12±0,47 p>0,1
3. ЛПС + МАП з лізоцимом	40±2 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3	34±1 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01	0,73±0,09 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3	1,60±0,11 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05	227±21 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05	105±8 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05	7,70±0,28 p>0,7 p <sub>1</sub> >0,05	7,95±0,74 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,1
4. ЛПС + МАП з ЕДТА	41±4 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3	35±3 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05	0,66±0,10 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3	1,58±0,14 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05	248±20 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	105±10 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05	7,17±0,48 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,5	7,90±0,66 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,2
5. ЛПС + МАП з ХГБГ	37±3 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05	35±1 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05	0,78±0,09 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,6	1,53±0,13 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,05	279±17 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01	112±9 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	6,89±0,54 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,7	7,73±0,58 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,3
6. ЛПС + МАП з лізоцимом + ХГБГ + ЕДТА	38±2 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,05	34±2 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05	0,70±0,11 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3	1,32±0,10 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,01	217±24 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05	112±12 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05	7,68±0,42 p>0,8 p <sub>1</sub> >0,2	7,67±0,70 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,3

Примітка. У табл. 1, 2: p — порівняно з 1-ю групою; p<sub>1</sub> — порівняно з 2-ю групою; СО — слизова оболонка.

На рис. 1 показано зміни ступеня дисбіозу в СОПР щурів, які отримували аплікації ЛПС і МАП. Видно, що при дії ЛПС ступінь дисбіозу в яснах зростає більше ніж у 5,6 разу, а у щоці — у 8,4 разу. Апліка-

ція МАП на слизові оболонки в усіх випадках вірогідно знижує ступінь дисбіозу, хоча і не повертає цей показник до норми. Даний показник максимально зменшується в слизовій оболонці щоки при дії МАП, що

містить усі три досліджуваних агенти. Навпаки, при дії ЛПС індекс АПІ вірогідно знижується (у середньому в 1,5 рази), а при аплікації МАП підвищується, причому в більшості випадків вірогідно (рис. 2).

У табл. 2 подано результати визначення в яснах вмісту гіалуронової кислоти. Показано, що ЛПС вірогідно знижує її вміст, що може свідчити про підвищення проникності тканин ясен для високомолекулярних речовин і мікробів. Мукоадгезивні плівки, що містять лізоцим, вірогідно підвищують вміст у яснах гіалуронової кислоти (майже до норми), тоді як МАП з ЕДТА або ХГБГ практично не впливають на знижений при дії ЛПС цей показник.

Таким чином, можна констатувати, що ЛПС дійсно є потужним патогенним фактором у порожнині рота, що підтверджують також дані літератури [4; 5]. Мукоадгезивні плівки з лізоцимом чинять протизапальну й антидисбіотичну дію на СОПР після впливу ЛПС, причому переважно за рахунок стабілізації рівня гіалуронової кислоти, яка, як відомо, є міжклітинним «цементом», що ви-

**Вплив мукоадгезивних плівок на вміст малнового діальдегіду і гіалуронової кислоти у слизових оболонках порожнини рота щурів після аплікацій ліпополісахариду**

Таблиця 2

Група	МДА, мкмоль/кг		Гіалуронова кислота, мг/кг
	СО ясен	СО щоки	СО ясен
1. Норма (без аплікації)	11,28±1,33	11,06±1,70	788,7±64,1
2. ЛПС (контроль)	14,87±1,24 p>0,05	15,51±1,35 p<0,05	505,7±36,2 p<0,05
3. ЛПС + МАП з лізоцимом	12,56±1,15 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,1	14,87±1,12 p>0,05 p <sub>1</sub> >0,3	666,7±48,2 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05
4. ЛПС + МАП з ЕДТА	12,50±1,13 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,1	12,18±1,25 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,05	569,0±40,2 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3
5. ЛПС + МАП з ХГБГ	13,30±1,00 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,3	12,82±1,10 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,1	534,5±44,7 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,3
6. ЛПС + МАП з лізоцимом + ХГБГ + ЕДТА	13,85±1,12 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,3	13,07±1,12 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,2	688,7±62,1 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05



## Ступінь дисбіозу

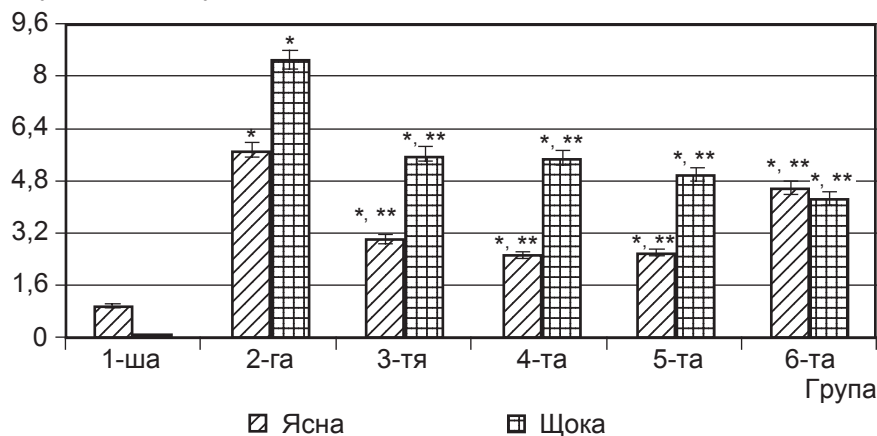


Рис. 1. Вплив мукоадгезивних плівок на ступінь дисбіозу у слизовій оболонці порожнини рота після аплікацій гелю з ліпополісахаридом. На рис. 1, 2: \* — різниця достовірна з 1-ю групою; \*\* — різниця достовірна з 2-ю групою

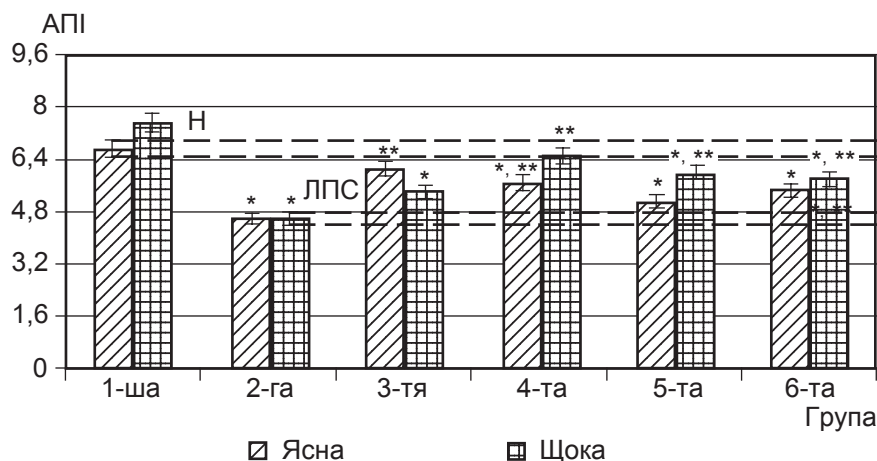


Рис. 2. Вплив мукоадгезивних плівок на антиоксидантно-прооксидантний індекс у слизовій оболонці порожнини рота після аплікацій гелю з ліпополісахаридом

значає проникність гістогематичних бар'єрів.

Слід також зазначити, що позитивну лікувально-профілактичну дію на СОПР справляють навіть МАП, що не містять лізоцим, імовірно, за рахунок адгезивної та сорбуючої дії кріогелю полівінілового спирту щодо ушкоджуючих факторів.

## Висновки

1. Аплікації ЛПС на СОПР викликають розвиток у ній дисбіотичних і запальних явищ при істотному зниженні вмісту гіалуронової кислоти.

2. Мукоадгезивні плівки комплексної дії з включеними лізоцимом, ХГБГ, ЕДТА проявляють антибактеріальну ак-

тивність, знижуючи на 50 % рівень уреазу — маркера мікробного обсіменіння в слизовій оболонці щоки.

3. Аплікації на СОПР МАП, що містять лізоцим, чинять антидисбіотичну та протизапальну дію і тим самим сприяють підвищенню (майже до норми) концентрації гіалуронової кислоти.

4. Певну позитивну роль у дії МАП виконує і їх механічна захисна функція.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Харенко Е. А. Мукоадгезивные лекарственные формы (обзор) / Е. А. Харенко, Н. И. Ларионова, Н. Б. Демина // Химико-фармацевтический журнал. — 2009. — Т. 43, № 4. — С. 21–29.

2. Punitha S. Polymers in mucoadhesive buccal drug delivery system — a review / S. Punitha, Y. Girish // Int. J. Res. Pharm. Sci. — 2010. — Vol. 1, N 2. — P. 170–186.

3. Декіна С. С. Протизапальна дія мукоадгезивних плівок з іммобілізованим лізоцимом на слизову оболонку щоки щурів / С. С. Декіна, А. П. Левицький, І. І. Романовська // Одеський медичний журнал. — 2011. — № 4 (126). — С. 7–9.

4. Tamura V. Lipopolysaccharides of Bacteroides intermedius (Prerotella intermedia) and Bacteroides (Porphyromonas gingivalis) induce interleukine-8 gene expression in human gingival fibroblast culture / V. Tamura, S. Nagaoka // Infect. Immun. — 1992. — Vol. 60, N 11. — P. 4932–4937.

5. Zhou Q. Cytokine profiling of macrophages exposed to Porphyromonas gingivalis, its Lipopolysaccharide, or its FimA protein / Q. Zhou, T. Desta, M. Fenton // Infection and Immunity. — 2005. — Vol. 73, N 2. — P. 935–943.

6. Тихонов А. И. Технология лекарств / А. И. Тихонов. — Х. : Изд-во НФАУ ; Золотые страницы, 2002. — 704 с.

7. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости : метод. рекомендации / сост. : А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. — Одесса, 2010. — 16 с.

8. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков : метод. рекомендации / сост. : А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская. — К. : ГФЦ, 2007. — 22 с.

9. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии / В. С. Асатиани. — М. : Наука, 1965. — 298 с.

10. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — К. : Морион, 2000. — 320 с.

## REFERENCES

1. Kharenko E.A., Larionova N.I., Demina N.B. Mucoadhesive medicinal forms (review). *Khimiko-pharmatsevticheskiy zhurnal* 2009; 4 (43): 21-29.

2. Punitha S., Girish Y. Polymers in mucoadhesive buccal drug delivery system — a review. *Int. J. Res. Pharm. Sci.* 2010; 2 (1): 170-186.

3. Dekina S.S., Levitsky A.P., Romanovska I.I. Anti-inflammatory effect on mucous cheeks rat mucoadhesive films with immobilized lysozyme. *Odes'kyi medychnyy zhurnal* 2011; 4 (126): 7-9.



4. Tamura V., Nagaoka S. Lipopolysaccharides of *Bacteroides intermedius* (*Prerotella intermedia*) and *Bacteroides* (*Porphyromonas gingivalis*) induce interleukine-8 gene expression in human gingival fibroblast culture. *Infect. Immun.* 1992; 11 (60): 4932-4937.

5. Zhou Q., Desta T., Fenton M. Cytokine profiling of macrophages exposed to *Porphyromonas gingivalis*, its Lipopolysaccharide, or its FimA protein. *Infection and Immunity* 2005; 2 (73): 935-943.

6. Tikhonov A.I. *Tekhnologia lekarstv* [Technology of medicines]. Kharkiv: Zoloty stranitsi, 2002, 704 p.

7. Levitskiy A.P., Denga O.V., Makarenko O.A. et al. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti (metod. rekomendatsii) [Biochemical markers of inflammation of the tissues of the oral cavity (metod. recommendations)]. Odessa, 2010, 16 p.

8. Levitskiy A.P., Makarenko O.A., Selivanskaya I.A. Fermentativnyy metod opredeleniya disbioza polosti dlya skringa pro- i prebiotikov (metod. reko-

mendatsii) [Enzymatic method for determining oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics (metod. recommendations)]. Kyiv, GFC, 2007, 22 p.

9. Asatiani V.S. *Novye metody biokhimicheskoy fotometrii* [New techniques of biochemical photometry]. Moscow, Nauka, 1965, 298 p.

10. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel* [Statistical methods in biomedical research using Excel]. Kyiv, Morion, 2000, 320 p.

Надійшла 4.04.2012

УДК 615.21/281:546.3:547.477.1

М. В. Матюшкіна<sup>1</sup>, В. В. Годован<sup>1</sup>,  
Л. М. Мудрик<sup>2</sup>, Т. Л. Гридiна<sup>2</sup>

## АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ НОВИХ КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК МЕТАЛІВ З ЛИМОННОЮ КИСЛОТОЮ

<sup>1</sup> Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна,

<sup>2</sup> ДУ «Український науково-дослідний протичумний інститут  
ім. І. І. Мечникова», Одеса, Україна

УДК 615.21/281:546.3:547.477.1

М. В. Матюшкіна<sup>1</sup>, В. В. Годован<sup>1</sup>, Л. М. Мудрик<sup>2</sup>, Т. Л. Гридiна<sup>2</sup>  
ПРОТИВОМИКРОБНІЕ СВОЙСТВА НОВЫХ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТАЛЛОВ С ЛИМОННОЙ КИСЛОТОЙ

<sup>1</sup> Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна,

<sup>2</sup> ГУ «Український науково-дослідний протичумний інститут ім. І. І. Мечникова», Одеса, Україна

Координаційні сполуки металів — кобальта, германія, олова з лимонною кислотою подавляли ріст штамів *Staphylococcus aureus*, що мають різний рівень антибіотикорезистентності. Кобальтосодержачі сполуки проявляли більшу антимікробну активність.

**Ключеві слова:** координаційні сполуки металів, антимікробна активність, *Staphylococcus aureus*.

UDC 615.21/281:546.3:547.477.1

М. V. Matyushkina<sup>1</sup>, V. V. Godovan<sup>1</sup>, L. M. Mudrik<sup>2</sup>, T. L. Grydina<sup>2</sup>  
ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF NEW CO-ORDINATION COMPOUNDS OF METALS WITH CITRIC ACID

<sup>1</sup> The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine,

<sup>2</sup> SE "I. I. Mechnikov Ukrainian Research Anti-Plague Institute", Odessa, Ukraine

**Actuality.** Wide application of antibiotics in medicine is accompanied with spreading antibiotic-resistant strains of staphylococcus. That is why there is conducted a constant search for new effective anti-staphylococcal medicines.

**Purpose of research** — studying anti-staphylococcal activity of the coordination compounds of metals — cobalt, germanium, tin with the citric acid on staphylococcus strains: *Staphylococcus aureus* ATSS 25923, *Staphylococcus aureus* 2781, *Staphylococcus aureus* Cunda.

**Materials and methods.** For studying sensitivity it was used a method of serial dilution in the fluid culture — the minimal concentrations of compounds were determined. Measuring turbidity of bacterial suspensions was conducted on densitometer, and value of optical density of suspension were interpreted by Mac-Farland turbidity unit (McF).

**Results of research.** The examined compounds suppressed growth of strains of *Staphylococcus aureus*, possessing a different level of antibiotic resistance. The cobalt-containing compound revealed high antimicrobial activity.

**Key words:** co-ordination compounds of metals, antimicrobial activity, *Staphylococcus aureus*.



Сьогодні у світі зростає кількість антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, і вони набувають широкого розповсюдження [1]. Суттєве значення має проблема поширення інфекцій, викликаних штамми *Staphylococcus aureus*, стійкими до антибіотиків [2]. Резистентність штамів поширюється не тільки на традиційні антибіотики, але й спостерігається набуття стійкості до нових груп антибіотиків. Тому пошук нових потенційних мішеней для протимікробних препаратів у збудника, виявлення нових сполук з протистафілококовою активністю є перспективним напрямом досліджень. Інший шлях розв'язання цієї проблеми — це комбіноване застосування антибіотиків з препаратами іншої природи. Так, сьогодні є повідомлення про створення ефективних комбінованих антимікробних сполук, наприклад, комплексу кобальту з похідними нітроїмідазолу, нітрофуранів [3].

Одним із факторів, що обтяжують перебіг інфекційного процесу, є порушення балансу біометалів. Тому приділяється увага питанням корекції метало-лігандного гомеостазу організму за допомогою координаційних сполук металів [4]. Комплексоутворення з біометалами є одним з ефективних напрямів пошуку нових біологічно активних речовин (БАР), оскільки воно дозволяє поєднувати в одній сполуці різні види активності, які до того ж можуть взаємно потенціювати один одного, розширювати спектр дії, знижувати токсичність лікарських засобів [5]. Доцільність і перспективність такого підходу до створення нових лікарських засобів, зокрема, підтверджується дослідженнями у галузі фармакології комплексних сполук германію. Як відомо, вони, поряд з достатньо низькою токсичністю,

мають широкий спектр фармакологічних властивостей (протипухлинні, нейротропні, протизапальні, антимікробні, противірусні та ін.) [6]. Тому на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова під керівництвом проф. І. Й. Сейфулліної цілеспрямовано були синтезовані чотири нові комплексні сполуки біометалів (германію, олова, магнію, кобальту) з лимонною кислотою:

- германій і магній з лимонною кислотою — гермацит;
- олово та магній з лимонною кислотою — станмацит;
- германій і кобальт з лимонною кислотою — геркоцит;
- олово та кобальт з лимонною кислотою — станкоцит.

Вибір складових цих координаційних сполук зумовлений таким.

Лимонна кислота, будучи головним проміжним продуктом метаболічного циклу трикарбонових кислот, відіграє важливу роль у системі біохімічних реакцій клітинного дихання; виявляє детоксикаційну, антиоксидантну, імуномодуючу, бактерицидну активність тощо. Крім того, сьогодні є дані про використання лимонної кислоти як антимікробного засобу [7].

Магній відіграє есенційну роль у багатьох фундаментальних клітинних реакціях, стимулює утворення білків, регулює зберігання і вивільнення АТФ, знижує збудження в нервових клітинах [8].

Останнім часом багато уваги приділяється сполукам олова, які виявляють нейротропні, антимікробні, противірусні та протигрибкові ефекти [9].

Кобальт має виражені антимікробні властивості та використовується як складова частина комплексних антибактеріальних сполук [9].

Враховуючи вищевикладене, можна припустити наяв-

ність у синтезованих координаційних сполук біометалів здатності пригнічувати життєдіяльність мікроорганізмів.

**Мета** первинної серії дослідження антибактеріальної активності нових комплексних сполук металів з лимонною кислотою — визначення чутливості до цих БАР трьох, різних за ступенем фармакорезистентності, штамів *Staphylococcus aureus*.

#### **Матеріали та методи дослідження**

У роботі використано штам *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 з колекції музею мікроорганізмів ДУ «Український науково-дослідний протичумний інститут ім. І. І. Мечникова МОЗ України» (Одеса), який характеризується генетичною стабільністю та чутливістю до антибіотиків і застосовується для контролю якості при визначенні чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів [10]. Крім того, були використані виділені від хворих штами *Staphylococcus aureus* 2781, *Staphylococcus aureus* Кунда з колекції музею мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» (Харків). Штам *Staphylococcus aureus* 2781, виділений від хворої на кон'юнктивіт, є помірно стійким до антибіотиків. Штам *Staphylococcus aureus* Кунда, виділений від хворого на післятравмовий остеомієліт, є мультирезистентним.

Для встановлення чутливості бактерій до нових БАР використовували метод серійного розведення у рідкому живильному середовищі, за допомогою якого визначали мінімальні пригнічувальні концентрації сполук [10]. Для цього готували розведення металокомплексів на живильному бульйоні Мюллера — Хінтона (Hi-Media, Індія). Мікробну суспензію (інокулум) готували за тради-





ційними методиками [10]. До 1,0 мл розведення досліджуваного БАР додавали 0,1 мл добової культури мікроорганізмів у концентрації  $10^9$  мікробних клітин на мілілітр. При виконанні дослідження проводили контроль кожної сполуки та дослідного штаму. Облік результатів здійснювали через 18–20 год інкубації при 37 °С. Вимірювання мутності бактеріальних суспензій проводили на денситометрі “Densi-Lameter” (Pliva-Lachema Diagnostika, Чехія), за допомогою якого значення оптичної щільності суспензій інтерпретувалися в одиниці мутності за МакФарландом (McF). За мінімально інгібуючу концентрацію (МІК) приймали мінімальну концентрацію, яка забезпечує повне пригнічення видимого росту штаму, що досліджувався. Досліди проводили у 5 повтореннях. Результати обробляли статистично за допомогою комп’ютерних програм Microsoft Excel 2007.

### Результати дослідження та їх обговорення

Додавання гермациту концентраціями 4000,0 і 3000,0 мкг/мл до рідкого середовища майже повністю (на 91,5 і 90,9 % відповідно) затримувало ріст контрольного для визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (табл. 1). Концентраціями 2000,0 і 1000,0 мкг/мл гермацит пригнічував ріст цієї культури майже удвічі порівняно з контролем (на 1,9 і 2,13 McF відповідно), що становить 34,6 і 38,3 %. Додавання гермациту концентраціями 800,0–50,0 мкг/мл різною мірою викликало статистично значуще пригнічення росту збудника ( $p < 0,05$ ), а концентрацією 25,0 мкг/мл — не спричиняло гальмівної дії на ріст штаму *S. aureus* ATCC 25923 (див. табл. 1).

Таблиця 1  
Вплив гермациту та станмациту на ріст культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 на рідкому середовищі

Концентрація БАР, мкг/мл	Оптична щільність суспензій за МакФарландом, McF	
	Гермацит	Станмацит
4000,0	<b>0,47*</b>	<b>0,50*</b>
3000,0	<b>0,50*</b>	1,77*
2000,0	3,60*	5,17
1000,0	3,37*	5,67
800,0	4,43*	5,60
600,0	4,60*	5,87
400,0	4,73	5,60
200,0	5,10	5,50
100,0	5,27	5,53
50,0	5,33	5,57
25,0	5,57	5,77
Контроль культури	5,50	5,50

Примітка. У табл. 1–3: \* — достовірність порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ).

Аналогічним чином впливало на ріст штаму *S. aureus* ATCC 25923 і застосування станмациту (див. табл. 1). Його додавання до рідкого середовища кінцевою концентрацією 4000,0 мкг/мл приводило до повного пригнічення росту культури (90,9 %). Концентрацією 3000,0 мкг/мл станмацит пригнічував ріст цього шта-

му на 3,73 McF порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), що становить 67,8 %. Застосування даної БАР меншими концентраціями (2000,0, 1000,0, 800,0–25,0 мкг/мл) не приводило до достовірного пригнічення росту збудника.

Сполуки геркоцит і станкоцит також впливали на ріст штаму *S. aureus* ATCC 25923 (табл. 2). Додавання цих БАР до рідкого середовища кінцевими концентраціями 1500,0–750,0 мкг/мл приводило до повного пригнічення росту мікроорганізму: мутність клітинних суспензій під дією геркоциту відповідно була в діапазоні 0,40–0,50 McF, станкоциту — 0,50–0,60 ( $p < 0,05$ ), тобто сполуки пригнічували ріст на 83,6 і 83,6 % відповідно. Геркоцит концентрацією 500,0 мкг/мл гальмував ріст штаму *S. aureus* ATCC 25923 на 1,4 McF ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем, що становило 45,9 % (див. табл. 2). Кінцевими концентраціями 250,0–125,0 мкг/мл геркоцит достовірно не пригнічував ріст культури. Додавання станкоциту до рідкого середовища кінцевими концентраціями 500,0–125,0 мкг/мл також не інгібувало ріст цього штаму.

Таким чином, усі досліджувані комплексні сполуки якоюсь мірою виявляли антистафілококову активність щодо

Таблиця 2  
Вплив геркоциту та станкоциту на ріст культур *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Staphylococcus aureus* Кунда на рідкому середовищі

Концентрація БАР, мкг/мл	Оптична щільність суспензій, McF			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923		<i>S. aureus</i> Кунда	
	Геркоцит	Станкоцит	Геркоцит	Станкоцит
1500,0	<b>0,40*</b>	<b>0,50*</b>	<b>0,45*</b>	<b>0,40*</b>
1000,0	<b>0,40*</b>	0,60*	<b>0,40*</b>	<b>0,40*</b>
750,0	<b>0,50*</b>	0,60*	2,65	2,50
500,0	1,65*	3,25	2,85	3,05
250,0	3,05	3,35	3,05	3,05
125,0	3,15	3,20	3,10	3,15
Контроль культури	3,05	3,05	3,05	3,05



штаму *S. aureus* ATCC 25923. Сполуки, які містять магній (гермацит і станмацит), виявили найменший бактеріостатичний ефект порівняно з кобальтвмісними БАР (геркоцит і станкоцит). Для гермациту МІК становила 3000,0 мкг/мл, станмациту — 4000,0 мкг/мл, геркоциту — 750,0 мкг/мл, станкоциту — 1500,0 мкг/мл. За вираженістю антистафілококової активності дані сполуки розподілилися так: геркоцит > станкоцит > гермацит > станмацит. Необхідно відмітити, що серед магній- і кобальтвмісних БАР найбільшу ефективність мали германієві похідні (гермацит і геркоцит).

Враховуючи найбільшу активність кобальтвмісних сполук щодо контрольного штаму *S. aureus*, подальші дослідження чутливості на помірно- і мультирезистентних штаммах проведено із застосуванням геркоциту і станкоциту. У результаті було встановлено, що на ріст мультирезистентного штаму *S. aureus* Кунда вони впливали дозами, порівнюваними з такими, у яких ці БАР інгібували ріст чутливого до антибіотиків штаму *S. aureus* ATCC 25923 (див. табл. 2). Додавання досліджуваних БАР до рідкого середовища кінцевими концентраціями 1500,0–1000,0 мкг/мл приводило до повного пригнічення росту *S. aureus* Кунда: оптична щільність під дією геркоциту відповідно була в діапазоні 0,45–0,40 McF, станкоциту — 0,40–0,40 McF ( $p < 0,05$ ), що становило 85,3 та 83,6 %. Похідне з германієм — геркоцит знову виявилось дещо активнішим. Його додавання кінцевими концентраціями 750,0–500,0 мкг/мл викликало достовірне пригнічення росту цього штаму, тимчасом як станкоцит виявив гальмівний ефект тільки концентрацією 750,0 мкг/мл (2,50 McF). Меншими концентраціями обидві речовини не впливали на ріст збудника.

Пригнічувальний вплив геркоциту і станкоциту на ріст мікроорганізмів також спостерігався щодо помірно стійкого до антибіотиків штаму *S. aureus* 2781, але меншими кінцевими концентраціями (табл. 3). Так, додавання до рідкого середовища геркоциту кінцевими концентраціями 18,50, 9,25, 4,60 та 0,60 мкг/мл приводило до пригнічення росту даної культури у 1,5–2,0 рази, тобто на 48,2–64,8 % ( $p < 0,05$ ), а концентраціями 2,30–1,15 мкг/мл — майже повністю (на 81,5–85,2 %) інгібувало її ріст (відповідно 0,50 і 0,40 McF) ( $p < 0,05$ ). Кінцевими концентраціями 0,30–0,03 мкг/мл ця БАР не впливала на ріст штаму *S. aureus* 2781.

Аналогічним чином впливав на ріст штаму *S. aureus* 2781 і станкоцит (див. табл. 3). Його додавання до рідкого середовища кінцевими концентраціями 20,66, 10,30, 5,20 і 0,65 мкг/мл приводило до гальмування росту цієї культури у 1,5–2,0 рази ( $p < 0,05$ ). Концентраціями 2,60–1,30 мкг/мл дана БАР майже повністю (79,6–83,3 %) інгібувала ріст цього штаму (відповідно 0,55 і 0,45 McF). Кінцевими концентраціями 0,32–0,04 мкг/мл станкоцит не впли-

вав на ріст *S. aureus* 2781. Таким чином, даний помірно резистентний штам *S. aureus* виявився найбільш чутливим до кобальтвмісних сполук. Для геркоциту МІК становила 1,15 мкг/мл, для станкоциту — 1,30 мкг/мл.

Отже, проведені дослідження свідчать про те, що нові досліджувані БАР пригнічують ріст штамів *Staphylococcus aureus* з різним рівнем чутливості до антибіотиків, причому більш виражена активність характерна для кобальтвмісних сполук.

### Висновки

За результатами дослідження антибактеріальної активності *in vitro* до стандартно контрольного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 встановлено, що нові комплексні сполуки металів з лимонною кислотою тією чи іншою мірою виявляли антистафілококову активність. Найбільшу ефективність мали кобальтвмісні сполуки, МІК геркоциту становила 750,0 мкг/мл, станкоциту — 1500,0 мкг/мл. Водночас цей показник магнійвмісних БАР (гермацит, станмацит) відповідно становив 3000,0 і 4000,0 мкг/мл. В обох рядах сполук германіє-

Таблиця 3

#### Вплив геркоциту та станкоциту на ріст культури *Staphylococcus aureus* 2781 на рідкому середовищі

Геркоцит		Станкоцит	
Концентрація, мкг/мл	Оптична щільність суспензій, McF	Концентрація, мкг/мл	Оптична щільність суспензій, McF
18,50	1,40*	20,66	1,45*
9,25	0,95*	10,30	0,95*
4,60	0,80*	5,20	0,70*
2,30	<b>0,50*</b>	2,60	<b>0,55*</b>
1,15	<b>0,40*</b>	1,30	<b>0,45*</b>
0,60	1,70*	0,65	1,25*
0,30	2,80	0,32	2,70
0,15	2,60	0,16	2,60
0,06	2,75	0,08	2,70
0,03	2,70	0,04	2,60
Контроль культури	2,70	Контроль культури	2,70



ві похідні (гермацит і геркоцит) мали найбільшу активність.

Штам *Staphylococcus aureus* Кунда, який є мультирезистентним для сучасних антибактеріальних препаратів, виявився однаково чутливим до кобальтвмісних сполук (геркоци-ту та станкоци-ту). Їх бактеріостатичний ефект виявлявся в концентрації 1000,0 мкг/мл.

Помірно резистентний штам *Staphylococcus aureus* 2781 виявився більш чутливим до кобальтвмісних сполук, причому германієве похідне (геркоцит) було більш ефективним: МІК геркоци-ту дорівнювала 1,15 мкг/мл, станкоци-ту — 1,30 мкг/мл.

Виявлена антистафілококова активність у кобальтвмісних координаційних сполук з лимонною кислотою свідчить про перспективність і доцільність їх подальшого доклінічного дослідження як антибактеріальних речовин.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сидоренко С. В. Резистентность микроорганизмов и антибактериальная терапия [Электронный ресурс] / С. В. Сидоренко // Русский медицинский журнал. – 1998. – Т. 6, № 11. – С. 717–725. – Режим доступа : [http://www.rmj.ru/articles\\_2159.htm](http://www.rmj.ru/articles_2159.htm).

2. Демиховская Е. В. MRSA — знаменитый и неизвестный Метициллин-резистентный *S. aureus*: механизмы резистентности, лабораторная диагностика, клиника и эпидемиология [Электронный ресурс] / Е. В. Демиховская // Болезни и антибиотики. – 2012. – № 2 (7). – Режим доступа : <http://www.mif-ua.com/archive/article/34693>

3. Каштанова Е. В. Антимикробная активность некоторых комплексов цинка и кобальта, содержащих метронидазол и фурацилин, и их влияние на течение инфекционного процесса : дис. ... канд. биол. наук / Е. В. Каштанова ; Курган. гос. ун-т. – Курган, 2006. – 134 с.

4. Муравьева Т. И. Эссенциальные микроэлементы. Их роль в сохранении здоровья, предупреждении и коррекции заболеваний / Т. И. Муравьева // Новая аптека. – 2001. – Спец. вып. – С. 138–143.

5. Головенко Н. Я. Биохимическая фармакология пролекарств / Н. Я. Головенко, И. А. Кравченко. – Одесса : Экологія, 2007. – 358 с.

6. Годован В. В. Фармакологічні властивості нових похідних германієвих солей дифосфонових кислот з біолігандами : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.05 / В. В. Годован ; Одес. держ. мед. ун-т. – Одеса, 2008. – 452 с.

7. A simple and effective approach for the treatment of chronic wound infections caused by multiple antibiotic resistant *Escherichia coli* / B. S. Nagoba, B. J. Wadher, A. K. Rao [et al.] // J. Hosp. Infect. – 2008. – Vol. 69, N 2. – P. 77–80.

8. Вислый А. А. Роль магния в регуляции физиологических процессов в организме / А. А. Вислый // Новости медицины и фармации в Украине. – 2008. – № 6 (238). – С. 14–15.

9. Синтез и антимикробные свойства комплексов переходных металлов с шиффовым основанием / Ш. М. Мамедова, З. П. Мамедова, З. Г. Солтанова [и др.] // Химические проблемы. – 2008. – № 3. – С. 48–52.

10. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» : Наказ МОЗ України від 05.04.2007 р. № 167/2007 // Новості медицини і фармации. – 2007. – № 18. – С. 225.

#### REFERENCES

1. Sidorenko S.V. Resistancy of microorganisms and antibacterial therapy [Electronic resource]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*; 1998; 6 (11): 717-725. Access mode: [http://www.rmj.ru/articles\\_2159.htm](http://www.rmj.ru/articles_2159.htm).

2. Demikhovskaya Ye.V. MRSA — well-known and unknown Meticillin-resistant *S. aureus*: modes of resistency, laboratory diagnosis, clinic and epidemiology [Electronic resource]. *Bolezni i antibiotiki* 2012; 2 (7). Access mode: <http://www.mif-ua.com/archive/article/34693>

3. Cashtanova Ye.V. Antimicrobial activity of some complexes of zinc and cobalt, containing metronidazol and furacyllin, and their influence on the infectious process course: dis. of cand. of biol. sciences, 2006. Kurgan State University. Kurgan, 2006, 134 p.

4. Muravyova T.I. Essential microelements. Their role in saving health, prevention and correction of diseases. *Novaya apteka* 2001: 138-143.

5. Golovenko N.Ya., Kravchenko I.A. Biomeditsinskaya farmakologia prolekarstv [Biochemical pharmacology of pro-medicines]. Odessa, Ecology, 2007, 358 p.

6. Godovan V.V. Farmacological properties of new derivatives of germanium salts of diphosphone acids with bioligands. MD dissertation. 14.03.05 the Odessa State Medical University. Odessa, 2008, 452 p.

7. Nagoba B.S., Wadher B.J., Rao A.K. et al. A simple and effective approach for the treatment of chronic wound infections caused by multiple antibiotic resistant. *Escherichia coli*. *J. Hosp. Infect.* 2008; 69 (2): 77-80.

8. Vislyy A.A. Role of magnesium in adjusting physiological processes in the organism. *Novosti meditsiny i farmatsii v Ukraine*. 2008; 6 (238): 14-15.

9. Mamedova Sh.M., Mamedova Z.R., Soltanova Z.G. et al. Synthesis and antimicrobial properties of complexes of transitional metals with shif basis. *Khimicheskie problemy* 2008; 3: 48-52.

10. About approval of methodic recommendations “Determination of sensitivity of microorganisms v to antibacterial medicines”. Order of MH of Ukraine of 05.04.2007; 167/2007. *Novosti meditsiny i farmatsii v Ukraine*; 18: 225.

Надійшла 5.05.2014





Є. П. Москвичев, Я. В. Рожковський

# МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДОКСОРУБІЦИН-ІНДУКОВАНОЇ ІМУНОСУПРЕСІЇ ІНДУКТОРОМ ЕНДОГЕННОГО ІНТЕРФЕРОНУ АМІКСИНОМ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 615.015:615.33:612.017:615.37

Е. П. Москвичев, Я. В. Рожковский

## МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДОКСОРУБИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ ИНДУКТОРОМ ЭНДОГЕННОГО ИНТЕРФЕРОНА АМИКСИНОМ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Целью работы было изучение роли цитокинзависимых процессов в механизмах формирования доксорубицин-индуцированной иммуносупрессии и установление возможностей их фармакологической коррекции индуктором эндогенного интерферона амиксином. Установлено, что четырехразовое введение мышам доксорубицина (1 раз в неделю в дозе 5,0 мг/кг) приводит к угнетению иммуносекреторной активности перитонеальных макрофагов и интенсивности бласттрансформации лимфоцитов периферической крови вследствие нарушения их чувствительности к комитогенному воздействию ИЛ-1 $\beta$  в условиях *in vitro*. Профилактическое применение индуктора эндогенного интерферона амиксина уменьшает доксорубицин-индуцированные нарушения цитокинпродуцирующей активности перитонеальных макрофагов, восстанавливает функциональный резерв продукции лимфоцитактивирующего фактора при дополнительной стимуляции макрофагов стафилококками в условиях *in vitro* и повышает чувствительность лимфоцитов периферической крови к модулирующему воздействию ИЛ-1 $\beta$  в реакции бласттрансформации лимфоцитов.

**Ключевые слова:** экспериментальная доксорубицин-индуцированная иммуносупрессия, амиксин, механизмы иммуномодулирующего действия.

UDC 615.015:615.33:612.017:615.37

Ye. P. Moskvychov, Ya. V. Rozhkovsky

## MECHANISMS OF REGULATION OF EXPERIMENTAL DOXORUBICIN-INDUCED IMMUNOSUPPRESSION OF ENDOGENOUS INTERFERON INDUCER AMIXIN

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Finding effective and safe way to reduce immunotoxic action of anticancer drugs without weakening their specific activity is the actual problem of modern medicine. In this regard, special attention was attracted to a national inducer of endogenous interferon amixin that is high means in the prevention and treatment of viral diseases and secondary immune deficiencies. However, the molecular mechanisms of action of immunotropic amixin and ability to use it for correcting violations of doxorubicin-induced immune disorders remain unclear. The aim was to study the role of cytokine-dependent processes in formation mechanisms of doxorubicin-induced immunosuppression and the establishment of opportunities for their pharmacological correction inducer of endogenous interferon amixin. It was found that 4-course treatment of mice with doxorubicin (1 time per week at a dose of 5.0 mg/kg) leads to inhibition of the activity of peritoneal macrophages and intensity of blasttransformation of peripheral blood lymphocytes as a result of violations of their sensitivity to the comitogenic effects of IL-1 $\beta$  *in vitro*. Prophylactic use of the inducer of endogenous interferon amixin reduces doxorubicin-induced disorders of cytokine producing activity of peritoneal macrophages, restores functional reserve lymphocyte activating factor production with additional stimulation of macrophages staphylococci *in vitro* and increases the sensitivity of peripheral blood lymphocytes to the modulating effects of IL-1 $\beta$  in reaction of blasttransformation of leukocytes.

**Key words:** experimental doxorubicin-induced immunosuppression, amixin, immunomodulatory action mechanisms.

Пошук ефективних і безпечних шляхів зниження імунотоксичної дії протипухлинних препаратів без послаблення їхньої специфічної активності залишається актуальною проблемою сучасної медицини. Біль-

шість схем комбінованого лікування злоякісних новоутворень різної локалізації містить протипухлинний антибіотик доксорубіцин, який разом із високою ефективністю та широким спектром протипухлин-

ної дії має високу системну токсичність [1–4]. З огляду на провідну роль оксидативного стресу в механізмах цито- й імунотоксичної дії доксорубіцину [2; 5], цілком логічним був пошук засобів профілактики





імунотоксичних ефектів цього препарату серед імуномодуляторів із мембранопротекторною й антиоксидантною активністю. У цьому сенсі особливу увагу привернув вітчизняний індуктор ендogenous інтерферону аміксин, який є високоактивним засобом у профілактиці та лікуванні вірусних захворювань і вторинних імунодефіцитів [6; 7].

Проте молекулярні механізми імунотропної дії аміксину та можливості його використання з метою корекції порушень доксорубіцин-індукованих розладів імунітету залишаються не з'ясованими. Відомо, що одним із головних клітинних ефекторів резистентності організму є система мононуклеарних фагоцитів. Як основне джерело імунорегуляторних цитокінів ці клітини здійснюють взаємодію неспецифічних і специфічних факторів резистентності [8]. Здатність цитокінів виконувати функцію комунікаційного сигналу поміж різними популяціями клітин, проникати усередину клітини, змінюючи її метаболізм, здійснювати дистанційний вплив на ЦНС відкриває реальну перспективу розширення уявлень про механізми компенсаторних реакцій [9]. Широкий спектр регуляторних ефектів цитокінів, їхній реальний вплив на резистентність організму та надзвичайна чутливість їх ендogenous секреції до впливу всіляких негативних факторів може слугувати підґрунтям для використання динаміки їх продукції з метою інтегральної оцінки функціонального стану організму.

Класичною моделлю мононуклеарних фагоцитів є перитонеальні макрофаги. Відомо, що лімфоцитаактивуюча активність перитонеальних макрофагів свідчить про загальну продукцію прозапальних цитокінів цими клітинами, передусім інтерлейкіну-1, інтерлейкіну-6 і фактора некрозу пухлин [10]. З другого боку, про-

цес регуляції імунних функцій залежить не тільки від інтенсивності продукції цитокінів, але й від чутливості клітин-мішеней до їхнього модулюючого впливу [8; 9]. Тому зважаючи на те, що найбільш важливою складовою частиною лімфоцитаактивуючого фактора (ЛАФ) є ІЛ-1, нами одночасно досліджувалася чутливість лімфоцитів периферичної крові тварин до комітогенного впливу ІЛ-1 $\beta$  у реакції бласттрансформації. Характер змін цитокін-продукуючої активності мононуклеарних фагоцитів і чутливості лімфоцитів до комітогенної дії цитокінів як в умовах формування доксорубіцин-індукованої імуносупресії, так і профілактичного застосування аміксину залишається нез'ясованим.

**Метою** дослідження було з'ясувати участь цитокінзалежних процесів у механізмах формування доксорубіцин-індукованої імуносупресії та визначити можливості їх фармакологічної корекції вітчизняним індуктором ендogenous інтерферону аміксином.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Експериментальні дослідження виконані на 228 нелінійних мишах масою 18–22 г. Усі маніпуляції на тваринах проводили згідно з вимогами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Доксорубіцинову імуносупресію на тваринах моделювали внутрішньом'язовим введенням доксорубіцину-КМП («Arterium», Україна) дозою 5,0 мг/кг один раз на тиждень протягом 4 тиж. [11]. Аміксин-ІС («Інтерхім», Україна) вводили профілактично протягом 5 діб після кожного введення доксорубіцину внутрішньоочеревинно дозою 2,0 мг/кг. Тварини були поділені на такі групи: 1-ша група — інтактна; 2-га–5-та

групи — тварини, які отримували доксорубіцин відповідно один, два, три та чотири рази; 6-та група — тварини, які отримували доксорубіцин протягом 4 тиж. на фоні профілактичного введення аміксину. Дослідження проводили на базі лабораторій Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України.

Виділення макрофагів з перитонеальної порожнини декапітованих тварин проводили шляхом їх змиву 5 мл середовища 199 («Sigma-Aldrich», Німеччина) з додаванням 100 ОД/мл бензилпеніциліну натрію («Київмедпрепарат», Україна). Виділені перитонеальні макрофаги суспендували в середовищі 199 у концентрації 3 млн клітин на міліметр і поміщали у 24-коміркову плату по 2 мл у кожну комірку для культивування (Scientific flow laboratories, Велика Британія). Для індукції утворення ЛАФ використовували *Staphylococcus aureus* (P-209) у розрахунку 20–30 убитих нагріванням мікробних тіл на 1 фагоцит. Активовані *in vitro* і неактивовані мононуклеарні фагоцити інкубували протягом 2 год при 37 °С в атмосфері 7 % вуглекислого газу (CO<sub>2</sub>-інкубатор, Flow laboratories, Велика Британія), видалляли супернатант із неприлиплими клітинами і додавали у тій же кількості середовище 199 з 5 % сироваткою великої рогатої худоби, 100 ОД/мл пеніциліну і 2 мМ глутаміну. Суспензію клітин інкубували ще протягом 18 год за тих же умов і видалляли центрифугуванням (1500 г при 400 °С протягом 30 хв). До вимірювання активності ЛАФ супернатант тримали при -20 °С. Лімфоцитаактивуючу активність інкубатів мононуклеарних фагоцитів оцінювали за їх здатністю додатково посилювати, тобто здійснювати комітогенний вплив на проліферацію тимоцитів, стимульованих субоптимальними дозами лектинів [12].



Культивацію клітин проводили в 96-коміркових планшетах (Flow laboratories, Велика Британія). У кожен комірку вносили 100 мкл суспензії тимоцитів — 0,5 млн клітин, 50 мкл конканаваліну А (Con A) — 0,25 мкг і 50 мкл досліджуваних зразків супернатантів у різних розведеннях (1 : 16, 1 : 32). Контролем були культури без супернатантів і культури з препаратом ІЛ-1 $\beta$  (беталейкін) в оптимальній стимулювальній концентрації (250 нг/мл). Кожну дослідну і контрольну проби здійснювали у 3–4 паралельні комірочки. Планшети розміщували в CO<sub>2</sub>-інкубаторі з 5 % газу при температурі 37 °С та 100 % вологості. Через 56 год у культуру вносили мічений тритієм тимідин у розрахунок 5 мкКі/мл («Изотоп», Російська Федерація). Через 16 год після закінчення культивування клітини переносили на фільтри за допомогою напівавтоматичного харвестера. Включення міченого тимідину в ДНК поділених клітин оцінювали за допомогою сцинтиляційного  $\beta$ -лічильника (ЛКВ).

Лімфоцити периферичної крові виділяли загальноприйнятим методом. Для здійснення реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) периферичної крові клітини культивували *in vitro* з Con A (0,75 мкг/мл) і препаратом беталейкін («ГосНИИ ОЧБ ФГУП», Російська Федерація) дозою 0,06 мкг/мл. Включення міченого Н<sup>3</sup>-тимідину оцінювали за допомогою сцинтиляційного  $\beta$ -лічильника (ЛКВ). Реакцію визначали кількісно за включенням мітки в ДНК лімфоцитів протягом 1 хв [13]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою критерію Стьюдента [14].

### Результати дослідження та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що перитонеальні макрофаги інтактних мишей ЛАФ-

активністю не володіють, тимчасом як стимуляція макрофагів стафілококами за умов *in vitro* приводить до ініціації продукції цитокінів цими клітинами.

Установлено, що курсове введення доксорубіцину супроводжується вираженими змінами продукції ЛАФ, характер яких залежить від тривалості застосування цитостатика. Зокрема, одноразове введення доксорубіцину не викликало спонтанної продукції ЛАФ перитонеальними макрофагами тварин, а їх стимуляція за допомогою *Staphylococcus aureus* в умовах *in vitro* ініціювала продукцію ЛАФ, але не виявила достовірного збільшення цього показника порівняно зі стимульованими макрофагами інтактних тварин. Дворазове введення доксорубіцину ініціювало продукцію ЛАФ макрофагами, яка реєструвалася протягом 48 год, тимчасом як стимуляція цих клітин додатково збільшувала продукцію цитокінів у всі терміни спостережень, але за своєю інтенсивністю не перевищувала стимульовану продукцію макрофагів у інтактних тварин. Як відомо, ЛАФ-активність супернатантів макрофагів відображає продукцію низки цитокінів цими клітинами, а саме: ІЛ-1, ІЛ-6, фактора некрозу пухлин, і, таким чином, є прямим свідченням активного синтезу імунорегуляторних пептидів у відповідь на вплив екзогенних чинників. Ймовірно, що повторне введення доксорубіцину, внаслідок ініціації оксидативного стресу, може змінювати метаболізм макрофагів і спонукати їх до секреції цитокінів [2; 5].

Триразове, з тижневим інтервалом, введення доксорубіцину також приводило до активації перитонеальних макрофагів і викликало ще більш тривалу (понад 72 год) продукцію ЛАФ. Проте рівень цієї продукції був вірогідно нижчим, ніж у тварин попередньої

групи (табл. 1). Після триразового введення цитостатика перитонеальні макрофаги піддослідних тварин практично не відповідали підвищенням продукції ЛАФ у відповідь на додаткову стимуляцію клітин стафілококами в умовах *in vitro*. При цьому стимульована продукція ЛАФ була більше ніж удвічі меншою за відповідний показник у інтактних тварин. Найбільш характерна ознака цього терміну застосування доксорубіцину — той факт, що стимуляція макрофагів уже не сприяла додатковому збільшенню їх ЛАФ-активності.

Таблиця 1

**Вплив доксорубіцину (5,0 мг/кг, в/м) на ЛАФ-активність перитонеальних макрофагів мишей (ЛАФ-активність · 10<sup>-3</sup> ОД/мл), M $\pm$ m, n=8**

Термін спостереження	ЛАФ-активність	
	без стимуляції	після стимуляції
Інтактна група	0	4,8 $\pm$ 0,4 <sup>#</sup>
Уведення доксорубіцину		
1 раз		
0 год	0	4,6 $\pm$ 0,4 <sup>#</sup>
24 год	—	—
48 год	—	—
72 год	—	—
2 рази		
0 год	3,4 $\pm$ 0,2	4,2 $\pm$ 0,3 <sup>#</sup>
24 год	3,0 $\pm$ 0,3	3,8 $\pm$ 0,4 <sup>*</sup>
48 год	2,3 $\pm$ 0,4	3,3 $\pm$ 0,4 <sup>*</sup>
72 год	0	4,0 $\pm$ 0,4 <sup>#</sup>
3 рази		
0 год	2,5 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,4 <sup>*</sup>
24 год	2,0 $\pm$ 0,5	2,1 $\pm$ 0,3 <sup>*</sup>
48 год	2,1 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,2 <sup>*</sup>
72 год	1,2 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,3 <sup>*</sup>
4 рази		
0 год	2,2 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,2 <sup>**</sup>
24 год	2,0 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,3 <sup>*</sup>
48 год	2,0 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,3 <sup>**</sup>
72 год	0,8 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,4 <sup>*</sup>

Примітка. \* — зміни вірогідні порівняно з інтактною групою (p<0,05); # — порівняно з показником ЛАФ-активності без стимуляції (p<0,05).



Найвираженіші зміни секреторної активності макрофагів були зафіксовані після чотириразового введення доксорубіцину. Продукція ЛАФ перитонеальними макрофагами тварин цієї групи була ще менш інтенсивною, але, порівняно з іншими термінами застосування цитостатика, більш тривалою і зберігалася понад 72 год. З огляду на відомі літературні дані, які свідчать про негативний вплив тривалої продукції цитокинів на функцію імунокомпетентних клітин [9], цей факт можна розглядати як один з імовірних механізмів розвитку імуносупресії, яка спостерігається в умовах тривалого застосування доксорубіцину. Найбільш характерною ознакою відтворення доксорубіцин-індукованої імуносупресії було зниження стимульованої продукції ЛАФ до рівня, нижчого ніж спонтанна продукція цитокинів. Якщо без стимуляції активність продукції ЛАФ макрофагами тварин цієї групи становила  $(2,2 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$  ОД/мл, то після додаткового впливу стафілококів вона знижувалася до рівня  $(1,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$  ОД/мл ( $p < 0,05$ ). Це означає, що за даних умов експерименту додаткова стимуляція макрофагів викликає протилежний ефект і, навпаки, пригнічує продукцію ними ЛАФ. Зниження реакції макрофагів у відповідь на вплив мікробних агентів може розглядатись як один з імовірних патогенетичних механізмів розвитку інфекційних ускладнень в умовах тривалої хіміотерапії доксорубіцином.

Відомо, що лімфоцити периферичної крові тварин відповідають реакцією бласттрансформації на дію ІЛ-1 $\beta$  у присутності субоптимальної дози лектинів — у цьому виявляється добре відомий комітогенний ефект ІЛ-1 $\beta$  [15; 16]. У наших експериментах за умов *in vitro* препарат ІЛ-1 $\beta$  — беталейкін спричиняв таку дію дозою 0,06 мкг/мл у присутності субоптимальної (0,625 мкг/мл)

доза Con A. Нами встановлено, що індуковане ІЛ-1 $\beta$  включення Н<sup>3</sup>-тимідину у ДНК лімфоцитів периферичної крові інтактних тварин зростало у 8,42 разу, про що свідчило збільшення зареєстрованих імпульсів з  $788 \pm 59$  до  $6639 \pm 310$ ;  $p < 0,05$  (табл. 2).

Курсове чотириразове введення доксорубіцину призвело практично до повної втрати відповідної реакції лімфоцитів на комітогенний вплив ІЛ-1 $\beta$ . Показник, який характеризує інтенсивність РБТЛ, при цьому знижувався з  $(6639 \pm 310)$  до  $(628 \pm 49)$  імп/хв, що у 10,6 разу менше порівняно з аналогічним у інтактних тварин. Вірогідно зменшувалася на 49,2 % — з  $(788 \pm 59)$  до  $(400 \pm 30)$  імп/хв ( $p < 0,05$ ) й міотична активність лімфоцитів за умов їх культивування тільки з Кон А без присутності ІЛ-1 $\beta$ . Отже, лімфоцити периферичної крові тварин в умовах доксорубіцин-індукованої імуносупресії втрачали чутливість до ІЛ-1 $\beta$  і переставали відповідати проліферацією на його комітогенний вплив. Зменшення інтенсивності бласттрансформації лімфоцитів спостерігалось

протягом усього терміну спостереження (0–72 год).

Таким чином, нами встановлено, що модель доксорубіцинової імуносупресії призводить до зниження продукції ЛАФ перитонеальними макрофагами і, що особливо важливо, характеризується зниженням функціонального резерву продукції ЛАФ макрофагами при їхній додатковій стимуляції стафілококами, а також різким пригніченням проліферативної активності лімфоцитів у РБТЛ у відповідь на комітогенний вплив ІЛ-1 $\beta$ .

Профілактичне застосування аміксину суттєво змінювало показники резистентності організму. На тлі імуномодулюючої терапії перитонеальні макрофаги тварин зразу ж після закінчення курсового введення доксорубіцину продукували ЛАФ набагато інтенсивніше, ніж без корекції, але тривалість цієї секреції скорочувалася до 48 год, тимчасом як в умовах доксорубіцинової імуносупресії без корекції цей термін перевищував 72 год. З огляду на те, що надлишкова і тривала продукція цитокинів може викликати ушкоджувальний вплив

Таблиця 2

**Вплив аміксину на ЛАФ-активність перитонеальних макрофагів і реакцію бласттрансформації лімфоцитів периферичної крові у тварин на фоні чотиритижневого введення доксорубіцину (1 раз на тиждень дозою 5,0 мг/кг, в/м),  $M \pm m$ ,  $n=8-10$**

Група тварин, термін спостереження	ЛАФ-активність, $\cdot 10^{-3}$ ОД/мл		РБТЛ (на Con A), імпульсів за хвилину	
	без стимуляції	після стимуляції	без ІЛ-1 $\beta$	з ІЛ-1 $\beta$
Інтактна група	0	4,8 $\pm$ 0,4	788 $\pm$ 59	6639 $\pm$ 310
Доксорубіцин				
0 год	2,2 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,2 <sup>#</sup>	400 $\pm$ 30 <sup>#</sup>	628 $\pm$ 49 <sup>#</sup>
24 год	2,0 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,3 <sup>#</sup>	508 $\pm$ 59 <sup>#</sup>	688 $\pm$ 68 <sup>#</sup>
48 год	2,0 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,3 <sup>#</sup>	478 $\pm$ 50 <sup>#</sup>	700 $\pm$ 90 <sup>#</sup>
72 год	0,8 $\pm$ 0,2	1,0 $\pm$ 0,4 <sup>#</sup>	603 $\pm$ 49 <sup>#</sup>	1136 $\pm$ 128 <sup>#</sup>
Доксорубіцин + аміксин				
0 год	4,8 $\pm$ 0,6*	6,6 $\pm$ 0,4* <sup>#</sup>	660 $\pm$ 47* <sup>#</sup>	4551 $\pm$ 240* <sup>#</sup>
24 год	3,6 $\pm$ 0,4*	5,3 $\pm$ 0,4*	689 $\pm$ 40*	4674 $\pm$ 225* <sup>#</sup>
48 год	0,5 $\pm$ 0,3*	5,0 $\pm$ 0,6*	700 $\pm$ 61*	4864 $\pm$ 347* <sup>#</sup>
72 год	0	4,5 $\pm$ 0,7*	682 $\pm$ 59	6392 $\pm$ 346*

Примітка. \* — порівняно з тваринами, які отримували доксорубіцин ( $p < 0,05$ ); # — порівняно з інтактними тваринами ( $p < 0,05$ ).





на деякі показники резистентності організму, зафіксоване нами обмеження тривалої продукції ЛАФ може розцінюватися як один із проявів імунопротекторної дії аміксину.

При цьому імунокорекція сприяла активному відновленню функціонального резерву продукції ЛАФ макрофагами в умовах їх додаткової стимуляції стафілококом. Зокрема, якщо в умовах доксорубіцинової імуносупресії стимульована *in vitro* продукція ЛАФ макрофагами нелікованих тварин становила  $(1,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$  ОД/мл, то за умов профілактичного застосування аміксину вона збільшувалася до  $(6,6 \pm 0,4) \cdot 10^{-3}$  ОД/мл ( $p < 0,05$ ). Імунокорекція аміксином збільшувала резерв стимуляції секреторної активності макрофагів (співвідношення стимульованої і нестимульованої продукції ЛАФ) у терміні спостереження 0 год — у 1,38 разу ( $p < 0,05$ ), через 24 год — у 1,47 разу ( $p < 0,05$ ), через 48 год — у 10,0 разів ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 2). Це вказує на можливість аміксину відновлювати втрачену в умовах хімотерапії доксорубіцином здатність макрофагів відповідати на дію мікробних агентів активним синтезом імунорегуляторних пептидів, що забезпечує участь цих клітин у реалізації протиінфекційного імунітету організму.

Разом із тим відомо, що ефективність модуляції імунної відповіді залежить не тільки від інтенсивності продукції імуномедіаторів, але й від чутливості клітин-мішеней до їхнього регулювального впливу. Зокрема, нами встановлено, що лімфоцити периферичної крові тварин в умовах імунокорекції доксорубіцин-індукованої імуносупресії, на відміну від тварин контрольної групи, зберігали здатність до бласттрансформації у присутності Con A фактично на рівні показників інтактної групи і відповідали значним посиленням РБТЛ у відповідь на додатковий

комітогенний вплив ІЛ-1 $\beta$ . Якщо комітогенний вплив ІЛ-1 $\beta$  на проліферацію лімфоцитів у тварин контрольної групи (без імунокорекції) у терміні спостереження 0 год проявляв себе збільшенням кількості радіоактивних імпульсів з  $(400 \pm 30)$  до  $(628 \pm 49)$  імп/хв ( $p < 0,05$ ), то на фоні профілактичного застосування аміксину цей показник зростав із  $(660 \pm 47)$  до  $(4551 \pm 240)$  імп/хв ( $p < 0,05$ ). Подібний характер активуючого впливу аміксину на показники стимульованої *in vitro* бласттрансформації лімфоцитів спостерігався і в інші терміни спостереження (24–72 год) після останнього введення доксорубіцину.

Отже, проведені дослідження дозволяють зробити такі

#### ВИСНОВКИ:

1. Одноразове введення доксорубіцину не впливає, дворазове — стимулює, а три- і особливо чотириразове введення доксорубіцину виражено пригнічує імуносекреторну активність перитонеальних макрофагів мишей після їх додаткової стимуляції *Staphylococcus aureus* в умовах *in vitro*. При тривалому введенні доксорубіцину лімфоцити периферичної крові втрачають чутливість до комітогенного впливу ІЛ-1 $\beta$  в РБТЛ за умов *in vitro*.

2. Профілактичне застосування індуктора ендogenous інтерферону аміксину спричиняє імуномодулюючий вплив, зменшуючи доксорубіцин-індуковані зміни цитокінпродукуючої активності перитонеальних макрофагів, відновлює функціональний резерв стимульованої продукції ЛАФ в умовах *in vitro* та підвищує чутливість лімфоцитів периферичної крові до модулюючого впливу ІЛ-1 $\beta$  в РБТЛ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Индукцированная* антрациклинами кардиотоксичность: механизмы развития и клинические проявления / М. Г. Матяш, Т. Л. Кравчук, В. В. Высоккая [и др.] // Сибирский онкологический журнал. — 2008. — № 6 (30). — С. 66–76.

2. *Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron* / T. Simůnek, M. Stérba, O. Popelová [et al.] // Pharmacol. Rep. — 2009. — Vol. 61, N 1. — P. 154–171.

3. *Doxorubicin acts via mitochondrial ROS to stimulate catabolism in C2C12 myotubes* / L. A. Gilliam, J. S. Moylan, E. W. Patterson [et al.] // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. — 2012. — Vol. 302, N 1. — P. 195–202.

4. *Клиническое значение кардиотоксичности антрациклинов: современные подходы к диагностике, профилактике и лечению* / О. А. Фандеев, С. С. Васечкин, М. Н. Алехин [и др.] // Кардиология. — 2011. — № 7. — С. 40–47.

5. *Саенко Ю. В. Изучение органо-специфических механизмов оксидативного стресса: дис. на соискание учен. степени канд. биол. наук: 14.00.25 — фармакология* / Ю. В. Саенко. — Ульяновск, 2006. — 168 с.

6. *Вивчення впливу інтерферогену «Аміксин-ІС» на інтерферогенез і цитотоксичну активність НК-клітин у хворих на хронічний гепатит С* / Є. В. Нікітін, К. Л. Сервецький, К. М. Усиченко, О. О. Буйко // Дослідження біології та медицини. — 2008. — № 2 (12). — С. 4–8.

7. *Synthetic and natural immunomodulators acting as interferon inducers* / D. S. Silin, O. V. Lyubomska, F. I. Ershov [et al.] // Current Pharmaceutical Design. — 2009. — Vol. 15. — P. 1238–1247.

8. *Innate immunity in aging: impact on macrophage function* / J. Plowden, M. Renshaw-Hoelscher, C. Engleman [et al.] // Aging Cell. — 2004. — Vol. 3, N 4. — P. 161–167.

9. *Кетлинский С. А. Цитокины* / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. — СПб.: Фолиант, 2008. — 552 с.

10. *Ковальчук Л. В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник* / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. — М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2011. — 640 с.

11. *Ефективність застосування тіотриазоліну за умов доксорубіцинової кардіоміопатії* / І. С. Чекман, Т. С. Трофімова, І. А. Мазур, Н. О. Горчакова // Запорожский медицинский журнал. — 2010. — Т. 12, № 5. — С. 207–210.

12. *Rosenwasser L. J. Ability of human leukocytic pyrogen to chance phytohemagglutinin induced murine thymocyte proliferation* / L. J. Rosenwasser, C. A. Dinarello // Cell. Immunol. — 1981. — Vol. 63, N 1. — P. 134–142.

13. *Гончаров А. Г. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного*





статуса : практикум / А. Г. Гончаров, И. С. Фрейдлин, В. С. Смирнов. – Калининград : Изд-во КГУ, 1997. – 73 с.

14. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, Д. М. Кретьер // *Цитокине*. – 2000. – Vol. 12, N 6. – P. 595–602.

15. Hedger M. P. Divergent cell-specific effects of activin-A on thymocyte proliferation stimulated by phytohemagglutinin, and interleukin 1 beta or interleukin 6 in vitro / M. P. Hedger, D. J. Phillips, D. M. Kretser // *Цитокине*. – 2000. – Vol. 12, N 6. – P. 595–602.

16. Олейник А. А. Рецепторы и механизмы реализации нейротропных эффектов цитокинов и факторов роста / А. А. Олейник, Р. С. Вастьянов // *Успехи физиологических наук*. – 2008. – Т. 39, № 2. – С. 47–57.

#### REFERENCES

1. Matyash M.G., Kravchuk T.L., Vysotskaya V.V., Chernov V.I., Goldberg V.E. Anthracycline-induced cardiotoxicity: mechanisms and clinical implications of development. *Siberian Oncol. Zhurnal* 2008; 6 (30): 66-76.

2. Simůnek T., Stérba M., Popelová O., Adamcova M., Hrdina R., Gersl V. Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacol. Rep.* 2009; 1 (61): 154-171.

3. Gilliam L.A., Moylan J.S., Patterson E.W., Smith J.D., Wilson A.S., Rabani Z., Reid M.B. Doxorubicin acts via mitochondrial ROS to stimulate catabolism in C2C12 myotubes. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2012; 1 (302): 195-202.

4. Fandeyev O.A., Vasechkin S.S., Alekhin M.N., Odintsov S.V., Callisto V.E., Sidorenko B.A. Clinical significance of anthracycline cardiotoxicity: current approaches to diagnosis, prevention and treatment. *Cardiology* 2011; 7: 40-47.

5. Saenko Yu.V. Study of organ mechanisms of oxidative stress : diss. of cand. biol. nauk : 14.00.25. Pharmacology. Ulyanovsk, 2006, 168 p.

6. Nikitin E.V., Servetsky K.L., Usichenko K.M., Buyko O.O. Study of the effect interferonogen "Amixin-IC" on interferogenesis and cytotoxic activity of NK-cells in patients with chronic hepatitis C. *Dosyagnennya biol ta med.* 2008; 2 (12): 4-8.

7. Silin D.S., Lyubomska O.V., Ershov F.I., Frolov V.M., Kutsyna G.A. Synthetic and natural immunomodulators acting as interferon inducers. *Current Pharmaceutical Design* 2009; 15: 1238-1247.

8. Plowden J., Renshaw-Hoelscher M., Engleman C., Katz J., Sambhara S. Innate immunity in aging: impact on macrophage function. *Aging Cell* 2004; 4 (3): 161-167.

9. Ketlinsky S.A., Simbirtsev A.S. Cytokines. Saint-Petersburg, Foliant, 2008. 552 p.

10. Kovalchuk L.V., Gankovskaya L.V., Meshkova R.Ya. Clinical immunology and allergy Immunology common with the basics: the textbook. M., GEOTAR-MEDIA, 2011, 640 p.

11. Chekman I.S., Trofimova T.S., Mazur I.A., Horchakova N.O. Efficacy of Thiotriazoline under conditions doxorubitsyn cardiomyopathy. *Zaporozhye Medical Journal* 2010; 5 (12): 207-210.

12. Rosenwasser L.J., Dinarello C.A. Ability of human leukocytic pyrogen to chance phyto-hemagglutinin induced murine thymocyte proliferation. *Cell. Immunol.* 1981; 1 (63): 134-142.

13. Goncharov A.G., Freidlin I.S., Smirnov V.S. Fundamentals of clinical immunology and methodological approaches to the assessment of the immune status : Workshop. Kaliningrad, KGU, 1997, 73 p.

14. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. Statistical methods in biomedical research using Excel. Kyiv, Morion, 2001, 320 p.

15. Hedger M.P., Phillips D.J., Kretser D.M. Divergent cell-specific effects of activin-A on thymocyte proliferation stimulated by phytohemagglutinin, and interleukin 1 beta or interleukin 6 in vitro. *Cytokine* 2000; 6 (12): 595-602.

16. Oleinik A.A., Vastyanov R.S. Receptors and mechanisms of neurotrophic effects of cytokines and growth factors. *Uspekhi fisiol. nauk* 2008; 2 (39): 47-57.

Надійшла 12.05.2014

УДК 535.343:612.017.4

О. І. Сирма<sup>1</sup>, В. М. Скобеєва<sup>2</sup>, В. О. Ульянов<sup>1</sup>

## МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СУДИННОГО РУСЛА ШКІРИ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

<sup>1</sup> Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна,

<sup>2</sup> НДІ фізики Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова,  
Одеса, Україна

УДК 535.343:612.017.4

Е. И. Сырма<sup>1</sup>, В. М. Скобеева<sup>2</sup>, В. А. Ульянов<sup>1</sup>

### МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСУДИСТОГО РУСЛА КОЖИ ПРИ УСЛОВИИ ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

<sup>1</sup> Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,

<sup>2</sup> НИИ физики Одесского национального университета им. И. И. Мечникова, Одесса, Украина

Цель работы — исследовать морфометрические изменения микроциркуляторного русла кожи, которые возникают при внутрикожном введении наночастиц серебра. Использовались наночастицы серебра сферической формы диаметром 30 нм, синтезированные цитратным методом. Эксперимент проводился на 140 крысах линии Вистар. Животные были разделены на четыре группы: интактные крысы; животные, которым вводились наночастицы серебра; протаргол; физиологический раствор. После подкожного введения 0,01 мл раствора эффект оценивался на 1, 3,



7, 14, 21, 30, 45-е сутки. Применялись стандартные гистологические методики. При введении наночастиц серебра диаметром 30 нм отмечается расширение всех сосудистых сплетений и увеличение удельной площади сосудов, которое продолжается до 21 сут., восстановление сосудистого русла до первоначальных значений происходит на 45-е сутки. В группе, получавшей протаргол, также отмечается увеличение размера сосудов, однако без возрастания удельной площади сосудистых петель. При этом процесс не распространяется на прилегающие зоны.

**Ключевые слова:** наночастицы серебра, кожа, микроциркуляция, морфометрия.

**UDC 535.343:612.017.4**

**O. I. Syrma<sup>1</sup>, V. M. Skobeyeva<sup>2</sup>, V. O. Ulyanov<sup>1</sup>**

## **MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF SKIN VESSELS AFTER ADMINISTRATION OF SILVER NANOPARTICLES**

<sup>1</sup> *The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine,*

<sup>2</sup> *RI of Physics of the Odessa National University named after I. I. Mechnikov, Odessa, Ukraine*

**Background.** Discovering of therapeutic effect of silver nanoparticles (NP) is an important question of research in the field of nanomedicine. The available literature data on the effect on the blood vessels of the skin AgNP contain conflicting information. Published data indicate a size-dependent effects on the blood vessels of the skin and the need for a detailed study of the nature of this effect depending on the size of nanoparticles.

**Objective.** To investigate the morphometric changes in the skin vessels tissues that occur during intradermal administration of silver nanoparticles.

**Methods.** Spherical silver nanoparticles 30 nm were used. The experiment was carried out on 140 Wistar rats. Animals were divided into 4 groups: intact animals, animals injected with silver nanoparticles, Protargolum, saline. After subcutaneous administration of 0.01 ml solution effect was assessed at 1st, 3rd, 7th, 14th, 21st, 30th, 45th day. Standard histological techniques were used.

**Results.** In rat skin the vessels form several textures, which are located under layered structure of the skin. Between the papillae and mesh layer there located subpapilar plexus capillaries which form a loop. On the border of the mesh layer and hypodermis lies subdermal plexus, and hypodermal plexus locates under hypodermis. It is shown that the introduction of silver nanoparticles in the skin provokes pronounced expansion of the subpapilar vascular plexus and an increase in the specific area of the vessels, which lasts up to 21 days. The restoration of the vascular bed to the original value occurs on the 45th day. In the Protargolum group it is also noted an increase in the size of blood vessels, but there is no increase in the specific area of vascular loops. This process does not spread to the surrounding area.

**Conclusion.** Introduction of silver nanoparticles 30 nm leads to pronounced expansion of the skin vascular plexus.

**Key words:** nanoparticles of silver, skin, microcirculation, morphometry.

Тенденції, які спостерігаються останнім часом у літературі, припускають, що користь від застосування наночастинок срібла (AgНЧ) в медицині, фармакології, косметології переважує потенційні проблеми їх токсичності. У зв'язку з цим дослідження біологічних ефектів AgНЧ — пріоритетний напрям розвитку наномедицини [1]. Враховуючи переважно місцеве застосування сполук срібла, як, наприклад, обробка ран і слизової оболонки, актуальним є вивчення взаємодії AgНЧ і шкіри.

Мікроциркуляторне русло шкіри відіграє важливу роль у гемодинаміці організму, при цьому судини шкіри в першу чергу реагують на альтерацію. Вивчення змін ангіоархітектоніки і морфометричних показників судин шкіри є важливим індикатором морфофункціонального стану шкіри в цілому.

Наявні літературні дані про вплив AgНЧ на судини шкіри містять суперечливі відомості. З одного боку, під впливом AgНЧ посилюються клітинна проліферація й ангіогенез [2], а з другого — є дані про антиангіогенні ефекти AgНЧ [3]. При цьому слід зазначити, що в усіх випадках досліджувалися AgНЧ різних розмірів, що робить зіставлення результатів неможливим, враховуючи розмірозалежні ефекти НЧ. Таким чином, дані літератури свідчать про наявність розмірозалежного впливу AgНЧ на судини шкіри і необхідність детального вивчення характеру цього впливу залежно від розміру НЧ.

**Мета** нашої роботи — дослідити морфометричні зміни судин шкіри та їх ангіоархітектоніки, які виникають при внутрішньошкірному введенні AgНЧ діаметром 30 нм.

## **Матеріали та методи дослідження**

### *1. Модель експерименту*

Експериментальні дослідження проведені на 140 інтактних щурах лінії Вістар обох статей масою 0,18–0,24 кг. Тварин утримували в стандартних умовах віварію Одеського національного медичного університету згідно з науково-практичними рекомендаціями про утримання лабораторних тварин і роботи з ними. Щури були розділені на чотири групи: інтактна контрольна група; тварини, яким вводили AgНЧ діаметром 30 нм; щури, яким вводили фізіологічний розчин; тварини, яким вводили 2 % розчин протарголу. Введення 0,01 мл розчину здійснювалося у ділянку холки підшкірно на глибину 120 мкм за допомогою інсулінового шприца. Після введення ефект оціню-



вали на 1-шу, 3-тю, 7-му, 14-ту, 21-шу, 30-ту, 45-ту добу. Виводили тварин із експерименту методом передозування ефірного наркозу. Експеримент виконувався з дотриманням норм Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», а також загальних етичних принципів експериментів на тваринах і Етичного кодексу вченого України.

## 2. Отримання і характеристика AgНЧ

У даній роботі для отримання AgНЧ був застосований цитратний метод, у якому до розчину нітрату срібла ( $\text{AgNO}_3$ ) певної концентрації додавали такий же об'єм розчину відновника (цитрат натрію).

Синтез AgНЧ проводили за таких технологічних параметрів:

- еквімолярні концентрації  $\text{AgNO}_3$  і  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  —  $5 \cdot 10^{-4}$  М;
- відношення концентрацій  $\text{AgNO}_3 : \text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  — 1 : 4;
- температура синтезу —  $100^\circ\text{C}$ ;
- час синтезу — 60 хв.

Характерно, що при цих параметрах синтезу з використанням натрію цитрату нами були отримані AgНЧ сферичної форми (рис. 1).

Для визначення середнього розміру AgНЧ нами застосовувався метод лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС), відомий у літературі як метод динамічного розсіяння світла [4]. В основі методу лежить експериментальне визначення

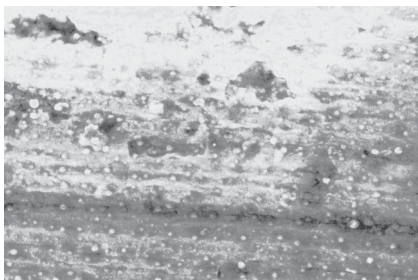


Рис. 1. Наночастинки срібла діаметром 30 нм, використані для проведення експериментальних досліджень. Растрова електронна мікроскопія

характерного часу розсіяння досліджуваним об'єктом монохроматичного випромінювання. У разі дифузії зважених в однорідному середовищі НЧ характерний час розсіяного випромінювання визначається при побудові кореляційної функції інтенсивності монохроматичного випромінювання розсіяного світла.

У нашому випадку розрахунок розміру НЧ методом ЛКС був проведений шляхом порівняння кореляційних функцій розсіяння колоїдного розчину, що містить AgНЧ, і розчину з еталонним об'єктом, яким була сильно розбавлена водна суспензія латексу. Діаметр частинок латексу, згідно з паспортними даними, дорівнював 0,06 мкм (похибка 5 %). У цьому випадку розмір оптичних неоднорідностей, викликаних наявністю розсіювальних об'єктів, визначався за формулою [4]:

$$d_{\text{НЧ}} = d_{\text{латекс}} \frac{\tau_{\text{НЧ}}}{\tau_{\text{латекс}}},$$

де  $d_{\text{латекс}}$ ,  $d_{\text{НЧ}}$  — діаметри частинок латексу і НЧ;  $\tau_{\text{латекс}}$  і  $\tau_{\text{НЧ}}$  — характерний час розсіяння монохроматичного світла, отриманий на зразку порівняння (латекс) та на AgНЧ, відповідно дорівнює 180 і 90 мкс.

Виходячи з цих даних, діаметр AgНЧ дорівнює 30 нм, що узгоджується з даними, отриманими іншими методами (оптичне поглинання, електронно-мікроскопічний). Наночастинки срібла синтезовані на базі НДІ фізики ОНУ ім. І. І. Мечникова.

## 3. Методики

Для морфологічних досліджень у тварин брали шкіру спини. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні та заливали в Гістамікс («Біовитрум», Російська Федерація) відповідно до загальноприйнятої гістологічної методики, готували постійні гістологічні препарати. Зрізи завтовшки 5–7 мкм забарвлювали ге-

матоксилін-еозином за Ван Гізоном, резорцин-фуксином і толуїдиновим синім [5].

Постійні гістологічні препарати досліджували методом світлової мікроскопії на мікроскопі «Zeiss Axiostar plus», обладнаному системою відеоаналізу зображень. Морфометричні дослідження отриманих зображень виконували з використанням програми «Видеотест-Мастер Морфологія» («Видеотест», Російська Федерація). Отримані зображення та цифрові дані зберігали в архіві, створеному за допомогою програмного забезпечення «Видеотест Альбом». Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 6.0». Для математичної обробки даних використовували дисперсійний аналіз. Якщо нульова гіпотеза віхилялася, то для подальшого аналізу використовували критерій Ньюмана — Кейлса. Дослідження проводили на базі кафедри гістології, цитології та ембріології ОНМедУ.

## Результати дослідження та їх обговорення

У шкірі щура судини утворюють кілька сплетень, які розташовуються відповідно до шарової будови шкіри. Між сочковим і сітчастим шарами розташовується субпапілярне сплетення, капіляри якого формують петлі. На межі сітчастого шару і гіподерми залягає субдермальне сплетення, а під гіподермою розташовується гіподермальне сплетення [6].

Через добу після внутрішньошкірного введення AgНЧ діаметром 30 нм відзначається збільшення діаметра всіх судинних сплетень шкіри в осередку ураження за рахунок активації тучних клітин та їх дегрануляції. На 3-тю добу експерименту тенденція до вазодилатації зберігається. На 7-му добу судини субпапілярного сплетення залишаються ди-





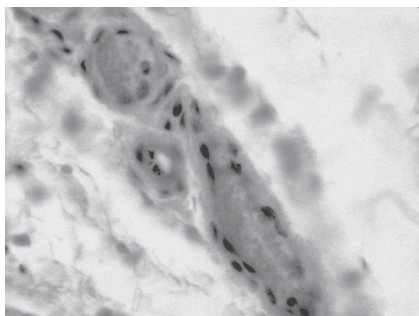


Рис. 2. Шкіра щура, внутрішньошкірне введення наночастинок срібла, 14-та доба експерименту. Розширені судини субпапілярного сплетення. Забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 400$

латованими, досягнувши максимуму на 14-ту добу, тимчасом як судини гіподермального і субдермальних сплетень починають поступово повертатися до вихідних розмірів (рис. 2).

На 21-шу добу експерименту в місці введення судини субпапілярного сплетення були значно розширені, кількість на одиницю площі підвищена, а судини інших сплетень практично повернулися до своїх нормальних розмірів. Майже повне відновлення морфометричних характеристик усіх судинних сплетень відбувається на 45-ту добу (табл. 1). У групі, що отримувала протаргол, судини теж збільшуються в діаметрі, але повернення морфометричних характеристик судин до нормальних значень перебігає швидше.

Після введення протарголу судини також дилатуються, тобто розширення судин є неспецифічною реакцією на алертерацію, але при цьому кількість судин на одиницю площі при взаємодії з AgНЧ діаметром 30 нм збільшується. Зростає питома площа петель практично вдвічі, більш того, вона не повністю повертається до початкових значень навіть на 45-ту добу (табл. 2).

З табл. 2 видно, що питома площа поверхні петель судинного сплетення при введенні AgНЧ діаметром 30 нм збільшується більше, ніж при введенні протарголу, при цьому діаметр судин в обох випадках збільшується однаково, тобто при введенні AgНЧ діаметром 30 нм збільшується кількість судин на одиницю об'єму.

При цьому слід зазначити, що в прилеглих до місця введення тканинах шкіри ангіоархітектоніка майже не змінюється. При введенні фізіологічного розчину ніякої реакції з боку судинного русла не відзначалося.

При аналізі отриманих даних морфометричних змін судинного русла відзначається розширення судин усіх сплетень у 1-шу добу після введення, що, насамперед, пов'язано зі збільшенням кількості тучних клітин та їх активною дегрануляцією. Процес вазодилатації триває до 14 діб, по-

тім відбувається їх поступове відновлення до попередніх розмірів. Слід зазначити, що процес вазодилатації є неспецифічною реакцією на подразнення, однак під час реакції на механічне ушкодження та під час репаративних процесів воно триває кілька діб, а відновлення до початкових розмірів закінчується на 12-ту добу [7]. Крім того, при введенні AgНЧ діаметром 30 нм відмічається збільшення питомої площі судин, тобто збільшується їх кількість. Очевидно, що збільшення тривалості та інтенсивності розширення судин викликане специфічним впливом НЧ і може свідчити про наявність процесів адаптації. Імовірно, розширення судин і збільшення їх кількості, що призводить до посилення живлення, націлене на підвищення синтезу міжклітинної речовини та волокон. Це підтверджується даними про неоколлагеногенез під впливом AgНЧ [8; 9]. Можливим механізмом цього процесу є вплив НЧ на цитокіновий профіль і на групу факторів росту в місці введення. Дані літератури підтверджують вплив AgНЧ на активність VEGF та інших факторів росту, однак ці факти суперечливі. Наночастинки срібла діаметром 50 нм, отримані біологічним методом, достовірно знижують VEGF і мають антиангіогенні властивості [3].

Таблиця 1

**Діаметр судин субпапілярного кровоносного сплетення щура під впливом наночастинок срібла діаметром 30 нм і протарголу, мкм,  $M \pm m$ ,  $n=6$**

Термін експерименту, доба	AgНЧ			Протаргол		
	Артеріоли	Капіляри	Венули	Артеріоли	Капіляри	Венули
Інтактні щури	13,6 $\pm$ 0,5	6,1 $\pm$ 0,1	54,8 $\pm$ 0,4	13,6 $\pm$ 0,5	6,1 $\pm$ 0,1	54,8 $\pm$ 0,4
1-ша	15,8 $\pm$ 0,8*	6,9 $\pm$ 0,2*	57,8 $\pm$ 0,3*	16,2 $\pm$ 0,6*	6,8 $\pm$ 0,1*	58,8 $\pm$ 0,2*
3-тя	18,2 $\pm$ 0,5**	7,5 $\pm$ 0,1**	60,3 $\pm$ 0,2**	19,2 $\pm$ 0,4**	7,2 $\pm$ 0,3*	57,5 $\pm$ 0,1*
7-ма	20,2 $\pm$ 0,4**	8,1 $\pm$ 0,4**	63,5 $\pm$ 0,5**	20,8 $\pm$ 0,3*	7,5 $\pm$ 0,1*	56,7 $\pm$ 0,3*
14-та	22,5 $\pm$ 0,2**	8,0 $\pm$ 0,5*	74,8 $\pm$ 0,3**	19,9 $\pm$ 0,5**	7,4 $\pm$ 0,3*	55,8 $\pm$ 0,4*
21-ша	21,7 $\pm$ 0,2*	7,4 $\pm$ 0,3**	68,2 $\pm$ 0,4**	16,9 $\pm$ 0,6**	6,9 $\pm$ 0,3*	55,7 $\pm$ 0,4
30-та	16,1 $\pm$ 0,1**	6,2 $\pm$ 0,3#	61,1 $\pm$ 0,3**	15,4 $\pm$ 0,6*	6,6 $\pm$ 0,5*	54,4 $\pm$ 0,3
45-та	14,2 $\pm$ 0,1	6,1 $\pm$ 0,2	57,8 $\pm$ 0,3**	13,8 $\pm$ 0,4	6,2 $\pm$ 0,6	54,9 $\pm$ 0,2

Примітка. У табл. 1 і 2: \* —  $p < 0,05$  порівняно з контрольною групою; # —  $p < 0,05$  порівняно з попереднім терміном спостереження.





Таблиця 2

**Питома площа поверхні петель субпапілярного сплетення під впливом наночастинок срібла діаметром 30 нм і протарголу, мкм<sup>2</sup>/мкм<sup>3</sup>, М±m, n=6**

Термін експерименту, доба	AgНЧ	Протаргол
Інтактні щури	0,054±0,001	0,054±0,001
1-ша	0,088±0,001*	0,069±0,001*
3-тя	0,092±0,001*#	0,071±0,001*
7-ма	0,094±0,001*#	0,078±0,001*#
14-та	0,095±0,001*	0,057±0,001*#
21-ша	0,081±0,001*#	0,050±0,001*#
30-та	0,065±0,001*#	0,053±0,001
45-та	0,067±0,001*	0,054±0,001

При цьому в іншому дослідженні [8] введення AgНЧ діаметром 15 нм призводить до збільшення VEGF. Слід зауважити, що в зазначених дослідженнях використовувалися НЧ різних розмірів: 50 і 15 нм. Отримані дані підтверджують наявність розмірозалежних ефектів НЧ, тобто нелінійну залежність біологічних ефектів від розміру НЧ.

### Висновки

Під впливом AgНЧ спостерігаються зміни морфометричних характеристик мікроциркуляторного русла шкіри, а саме: збільшення діаметра судин і питомої площі. Порівняно з протарголом введення AgНЧ діаметром 30 нм викликає більш інтенсивний і довготривалий ефект вазодилатації та збільшення кількості судин.

**Перспективи подальших досліджень.** Уточнення механізму впливу AgНЧ діаметром 30 нм на ангіоархітектоніку потребує подальших імуногістохімічних досліджень.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Наночастинки: впровадження у медичну практику* / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, О. О. Нагорна, Т. І. Нагорна // Вісник фармакології та фармації. – 2010. – № 10. – С. 2–11.
2. Thirumurugan Gunasekaran. Silver Nanoparticles as Real Topical Bullets for Wound Healing / Thirumurugan Gunasekaran, Tadele Nigusse, Magharla Dasaratha Dhanaraju // Journal

of the American College of Clinical Wound Specialists. – 2012. – N 3. – P. 82–96.

3. *Antiangiogenic properties of silver nanoparticles* / Sangiliyandi Gurunathan, Kyung-Jin Lee, Kalimuthu Kalishwaralal, Sardarpasha Sheikpranbabu // Biomaterials. – 2009. – N 30. – P. 6341–6350.

4. Гоцульський В. Я. Коррелометр для случайных импульсных сигналов / В. Я. Гоцульський, В. Е. Чечко, В. Г. Заремба // ПТЭ. – 1997. – № 2. – С. 161–162.

5. *Микроскопическая техника* : руководство / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.

6. Борис Р. Я. Морфологічні особливості судинного русла шкіри щурів / Р. Я. Борис // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2008. – № 4. – С. 11–15.

7. Дісковський І. С. Морфометричний аналіз кровеносних сплетень шкіри в нормі та за умов репаративного процесу в експерименті / І. С. Дісковський // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2013. – № 3. – С. 201–204.

8. *Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing* / J. Tian, K. K. Wong, C. M. Ho [et al.] // ChemMedChem. – 2007. – N 2. – P. 129–136.

9. *Modulation of collagen alignment by silver nanoparticles results in better mechanical properties in wound healing* / Karen H. L. Kwan, Xuelai Liu, Michael K. T. To [et al.] // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine. – 2011. – N 7. – P. 497–504.

### REFERENCES

1. Chekman I.S., Gorchakova N.O., Nagorna O.O., Nagorna T.I. Nanopar-

articles: introduction into medical practice. *Journal of Pharmacology and Pharmacy* 2010; 10: 2-11.

2. Thirumurugan Gunasekaran, Tadele Nigusse, Magharla Dasaratha Dhanaraju. Silver Nanoparticles as Real Topical Bullets for Wound Healing. *Journal of the American College of Clinical Wound Specialists* 2012; 3: 82-96.

3. Sangiliyandi Gurunathan, Kyung-Jin Lee, Kalimuthu Kalishwaralal, Sardarpasha Sheikpranbabu. Antiangiogenic properties of silver nanoparticles. *Biomaterials* 2009; 30: 6341-6350.

4. Hotsulskyy V.Ya., Chechko V.E., Zarembo V.G. Korreloметр for random signals. *PTE*. 1997; 2: 161-162.

5. Sarkisov D.S., Perov J.L. (eds). *Microscopic technique: Manual*. Moscow. Meditsina, 1996, 544 p.

6. Boris R.Ya. The morphological features of the vascular bed of rat skin. *Clinical Anatomy and Operative Surgery* 2008; 4: 11-15.

7. Diskovskiy I.S. Morphometric analysis of blood plexus in normal skin and in terms of reparative processes in experimental. *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine* 2013; 3: 201-204.

8. Tian J., Wong K.K., Ho C.M. et al. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem*. 2007; 2: 129-136.

9. Karen H.L. Kwan, Xuelai Liu, Michael K.T. To, Kelvin W.K. Yeung et al. Modulation of collagen alignment by silver nanoparticles results in better mechanical properties in wound healing. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 2011; 7: 497-504.

Надійшла 20.05.2014



Я. А. Тарасенко

# БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ТКАНИНАХ КРОВІ ТА МОЗКУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПЕСТИЦИДАМИ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ СИНТЕТИЧНИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава, Україна

УДК 615.916'13-092.9-085.356

Я. А. Тарасенко

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ТКАНЯХ КРОВИ И МОЗГА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПЕСТИЦИДАМИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ СИНТЕТИЧЕСКИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ

ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава, Украина

Среди множества экотоксикантов не последнее место занимают средства химической защиты растений — пестициды, а именно производные 2,4-феноксиуксусной кислоты (2,4-ДА).

Цель работы — изучить влияние синтетических антиоксидантов на биохимические показатели в тканях крови и мозга крыс при длительном воздействии аминной соли 2,4-ДА. В крови и тканях мозга исследовали уровень спонтанного гемолиза эритроцитов и продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой, а также активность каталазы, СОД и церулоплазмينا.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения синтетических антиоксидантов мексидола и тиотриазолина с профилактической и лечебной целями при токсическом влиянии на организм пестицида аминной соли 2,4-ДА.

**Ключевые слова:** антиоксиданты, пестициды, свободнорадикальное окисление липидов.

UDC 615.916'13-092.9-085.356

Ya. A. Tarasenko

## BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD AND BRAIN TISSUE UNDER CONDITIONS OF CHRONIC INTOXICATION WITH PESTICIDES AND THEIR CORRECTION BY SYNTHETIC ANTIOXIDANTS

Higher Medical Educational Institution of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava, Ukraine

Recently the problem of ecological safety of the human is the more actual: intoxication with chemicals of anthropogenous origin increases. Means of chemical protection of plants, such as pesticides, namely derivatives of 2,4-phenoxyacetic acid (2,4-DA), are important among other ecotoxikants.

The purpose is to study influence of synthetic antioxidants (SA) on biochemical indicators in blood and brain of rats at long influence of amine salt 2,4-DA.

The experiment was conducted with 60 rat males were administered a toxicant (amine salt 2,4-DA) and synthetic antioxidants thiotriazoline and mexidol. In the blood and brain tissues it was examined the level of spontaneous haemolysis of erythrocytes and the products reacting with 2-thiobarbituric acid, and the activity of catalase, SOD and ceruloplasmin.

The results indicate the possibility of using synthetic antioxidants mexidol and thiotriazoline with the prophylactic and therapeutic purposes at the toxic effects of pesticide amine salt 2,4-DA on the organism.

**Key words:** antioxidants, pesticides, free radical oxidation of lipids.

Останнім часом усе більш актуальною є проблема екологічної небезпеки людини: підвищується частота отруєнь хімічними речовинами антропогенного походження. До ксенобіотиків, що надходять у процесі життєдіяльності до організму людини і тварин, здатних зумовлювати ураження різних органів і систем, належать промислові отрути, пестициди, канцерогени, синтетичні лікарські речовини, хімічна продукція побутового при-

значення тощо [9; 10]. За даними ВООЗ, у світі щороку нараховується понад 1,5 млн випадків отруєнь людей тільки зареєстрованими пестицидами. Крім гострих отруєнь, повідомляється також про випадки хронічної інтоксикації населення у багатьох країнах, у переліку яких не останнє місце посідає Україна [5]. Одними з найбільш поширених пестицидів, що застосовуються у сільському господарстві, є похідні 2,4-дихлорфеноксі-

оцтової кислоти (2,4-ДА). Деякі дані літератури свідчать про вільнорадикальний механізм їх ушкоджувальної дії, що обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів (АО) з лікувально-профілактичною метою [12].

**Мета** даної роботи — вивчення впливу синтетичних АО тиотриазоліну та мексидолу на біохімічні показники у тканинах мозку та крові щурів при хронічному надходженні аміної солі 2,4-ДА.



## Матеріали та методи дослідження

Експеримент проведено на чотирьох групах щурів-самців лінії Вістар масою 170–195 г: 15 щурів утворили інтактну групу, яку протягом експерименту утримували в умовах віварію по 5 тварин у клітках (1-ша група), і 15 щурів-самців, яким протягом 30 діб вводили внутрішньошлунково гербіцид 2,4-ДА дозою 120 мг/кг (2-га група). Щури 3-ї та 4-ї груп (по 15 тварин) на тлі введення токсиканта відповідно отримували АО: мексидол дозою 50 мг/кг і тіотріазолін дозою 100 мг/кг внутрішньошлунково.

Евтаназію щурів здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла) шляхом взяття крові з серця до його зупинки. Оцінювали загальносоматичні показники: масу тіла, стан шерсті, рухливість, а також біохімічні дані. У крові визначали рівень спонтанного гемолізу еритроцитів (СГЕ), для чого досліджували фізико-хімічні властивості еритроцитів при інкубації у фосфатному буфері (рН 7,4) протягом 4 год при температурі 37 °С. Рожеве забарвлення, яке реєструється, зумовлене гемоглобіном еритроцитів унаслідок перекисного окиснення фосфоліпідів мембран, що дозволяє судити про забезпеченість мембран еритроцитів гідрофобними АО [10].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за здатністю адреналіну самоокиснюватись у лужному середовищі з генерацією супероксиданіонрадикалу; у присутності СОД швидкість реакції знижується. Порівняння швидкості окиснення контрольної та дослідної проби дає змогу судити про активність ензиму [2].

Рівень вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО) ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів [8]. Принцип методу базується на їх властивості поглинати світло-

ве випромінювання в ультрафіолетовому відрізку спектра. У тканинах мозку досліджували вміст продуктів, що реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [4]. Принцип ґрунтується на здатності малонового діальдегіду реагувати з ТБК з утворенням триметинового комплексу, який має рожеве забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації ТБК-реактантів. Активність каталази мозку досліджували за здатністю перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [7]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію Стьюдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

За час проведення інтоксикації загинуло 2 тварини. При вивченні біохімічних показників крові виявлено, що вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові тварин 2-ї групи дорівнює (12,1±2,3) ммоль/л, тимчасом як у інтактних — (3,9±0,9) ммоль/л, тобто спостерігається вірогідне його зростання порівняно з показниками в інтактних тварин ( $p_{1-2}<0,002$ ). При дослідженні ВРПО ліпідів у тканинах мозку визначено вірогідне підвищення ТБК-реактантів до (49,5±4,2) нмоль/г ( $p_{1-2}<0,01$ ) і зростання рівня СГЕ до (27,3±3,7) % ( $p_{1-2}<0,001$ ) порівняно з показниками в інтактних тварин. При вивченні активності антиоксидантних ферментів (АФ) у крові зареєстровано зниження активності СОД (57,3±3,7) % і церулоплазміну — (39,8±2,4) ОД/мл. У тканинах мозку спостерігається вірогідне зниження активності СОД порівняно з показниками в інтактних тварин у 1,4 разу ( $p<0,001$ ), а каталази — у 1,7 разу ( $p<0,001$ ).

Тварини 3-ї групи на тлі хронічного надходження токсиканту отримували мексидол протягом 30 діб. При дослідженні рівня забезпеченості еритроцитарних мембран гідрофоб-

ними АО виявлена нормалізуюча дія мексидолу. Рівень дієнових кон'югатів суттєво не відрізнявся від показників у інтактних тварин (табл. 1). Мексидол вірогідно нормалізував рівень ТБК-реактантів у тканинах мозку ( $p_{2-3}<0,5$ ). При дослідженні рівня відновленого глутатіону спостерігалось вірогідне його підвищення у крові до (2,00±0,09) мкмоль/л порівняно з показниками у щурів, які отримували 2,4-ДА протягом 30 діб — (1,10±0,06) мкмоль/л ( $p_{2-3}<0,01$ ), але він залишається вірогідно нижчим за показники в інтактних тварин — (2,76±0,14) мкмоль/л ( $p_{1-3}<0,02$ ).

Активність каталази після введення мексидолу наближалася до показників у інтактних тварин (див. табл. 1). Аналіз активності СОД виявив її нормалізацію в усіх вивчених тканинах, у крові спостерігалось вірогідне підвищення її активності порівняно з показниками у щурів 2-ї групи ( $p_{2-3}<0,05$ ), аналогічна динаміка зафіксована щодо активності церулоплазміну (див. табл. 1).

Щурам 4-ї групи на тлі 30-денного отримування пестициду 2,4-ДА вводили тіотріазолін. Тварини добре перенесли препарат. Загибелі тварин не зареєстровано, щури задовільно набирали масу, мали здоровий вигляд. Введення препарату призвело до вірогідного зниження активності ВРПО — вміст дієнових кон'югатів у крові щурів 4-ї групи вірогідно зменшився порівняно з показниками в контрольній групі — до (6,4±1,3) ммоль/л ( $p_{2-4}<0,002$ ) і наблизився до показників у інтактних тварин — (3,80±0,56) ммоль/л ( $p_{1-4}<0,1$ ). Також спостерігалось вірогідне зниження ТБК-реактантів у тканинах мозку до (37,25±2,40) нмоль/г порівняно з показниками у тварин 2-ї групи; але порівняно з показниками в інтактних тварин він є вірогідно високим ( $p_{1-4}<0,05$ ). При дослідженні рівня забезпеченості еритроцитарних мембран гідрофоб-





Таблиця 1

**Вплив 2,4-дихлорфеноксіцтової кислоти  
на біохімічні показники щурів  
та їх корекція антиоксидантами протягом 30 діб**

Біохімічний показник		Інтактні щури (1-ша група)	Введення 2,4-ДА (2-га група)	Введення 2,4-ДА + мексидол (3-тя група)	Введення 2,4-ДА + тіотріазолін (4-та група)
СГЕ, %		7,2±1,9	27,3±3,7 p <sub>1-2</sub> <0,001	9,7±2,2 p <sub>1-3</sub> <0,5 p <sub>2-3</sub> <0,002	10,10±1,12 p <sub>1-4</sub> <0,25 p <sub>2-4</sub> <0,001
Дієнові кон'югати, ммоль/л		3,80±±0,56	12,3±1,4 p <sub>1-2</sub> <0,001	6,04±1,90 p <sub>1-3</sub> <0,25 p <sub>2-3</sub> <0,01	6,4±1,3 p <sub>1-4</sub> <0,1 p <sub>2-4</sub> <0,002
ТБК-реактанти, нмоль/г, мозок		31,2±3,9	49,5±4,2 p <sub>1-2</sub> <0,01	36,02±1,87 p <sub>1-3</sub> <0,5 p <sub>2-3</sub> <0,02	37,52±2,40 p <sub>1-4</sub> <0,05 p <sub>2-4</sub> <0,002
Каталаза, ммоль/(хв·г), мозок		0,204±±0,016	0,121±±0,017 p <sub>1-2</sub> <0,001	0,191±±0,012 p <sub>1-3</sub> <0,5 p <sub>2-3</sub> <0,02	0,165±±0,010 p <sub>1-4</sub> <0,02 p <sub>2-4</sub> <0,02
СОД, %	кров	78,9±3,2	57,3±3,7 p <sub>1-2</sub> <0,001	66,28±2,90 p <sub>1-3</sub> <0,01 p <sub>2-3</sub> <0,05	67,05±1,90 p <sub>1-4</sub> <0,01 p <sub>2-4</sub> <0,05
	мозок	83,4±4,6	59,2±3,7 p <sub>1-2</sub> <0,001	74,8±3,9 p <sub>1-3</sub> <0,25 p <sub>2-3</sub> <0,01	79,0±3,0 p <sub>1-4</sub> <0,25 p <sub>2-4</sub> <0,002
Церулоплазмін, ОД/мл		56,7±3,1	39,8±2,4 p <sub>1-2</sub> <0,001	49,2±2,3 p <sub>1-3</sub> <0,05 p <sub>2-3</sub> <0,002	51,80±2,02 p <sub>1-4</sub> <0,25 p <sub>2-4</sub> <0,01

рофобними АО виявлено вірогідне зниження показника СГЕ до (10,10±1,12) % порівняно з тваринами 2-ї групи, що наближався до рівня СГЕ в інтактних тварин (p<sub>1-4</sub><0,25). При вивченні рівня відновленого глутатіону спостерігалось вірогідне його підвищення у крові до (2,32±0,10) мкмоль/л порівняно з показниками у щурів, які отримували 2,4-ДА протягом 30 діб — (1,10±±0,06) мкмоль/л (p<sub>2-4</sub><0,001). При цьому показник вірогідно нижчий, ніж у тварин інтактної групи, у якій він становив (2,76±±0,14) мкмоль/л (p<sub>1-4</sub><0,02). При вивченні активності АФ у крові тварин 4-ї групи виявлено вірогідне підвищення активності СОД у 1,2 разу та церулоплазміну в 1,3 разу порівняно з показниками в контрольній групі (p<sub>2-4</sub><0,05 та p<sub>2-4</sub><0,01 від-

повідно). При цьому активність СОД залишалася вірогідно нижчою за показники в інтактній групі (p<sub>1-4</sub><0,01), але активність церулоплазміну наближалася до показників 1-ї групи (p<sub>1-4</sub><0,25). У тканинах мозку теж спостерігалось вірогідне підвищення АФ порівняно з показниками в контрольній групі, а порівняно з показниками в інтактних тварин вірогідно нижчою залишилася активність каталази (p<sub>1-4</sub><0,02; див. табл. 1).

Ушкоджувальна дія пестициду 2,4-ДА проявляється активацією ВРПО ліпідів, яка може бути зумовлена розбігом процесів окисного фосфорилування з подальшим порушенням енергетичного обміну та переведенням його на вільнорадикальний шлях, що, зрештою, призводить до посилення β-окиснення жирних кислот і

підвищення ВРПО ліпідів, що, у свою чергу, сприяє зниженню антиоксидантної забезпеченості й активності АФ у тканинах мозку та крові. Ці дані дали підставу для вивчення препаратів з антиоксидантними властивостями в умовах 30-денного надходження токсиканту.

Введення тіотріазоліну запобігає смертності тварин у групах з ізольованою дією 2,4-ДА та знижує втрату маси щурів. Застосування препарату сприяло зниженню рівня продуктів ВРПО ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-реактантів), гальмуванню зниження антиоксидантної забезпеченості організму та нормалізації активності АФ (СОД, каталаза, церулоплазмін). Також під дією препарату спостерігається нормалізація рівня відновленого глутатіону у крові. На підставі власних досліджень і численних даних літератури [11], тіотріазолін виявляє мембраностабілізуючу дію, що лежить в основі зниження інтенсивності ВРПО ліпідів і підвищення активності системи антиоксидантного захисту (САЗ) на рівні мембран. Препарату також властива антиоксидантна, протизапальна, імуномодуюча, гепатопротекторна, протишемічна та репаративна дія. Захисний вплив тіотріазоліну в умовах введення токсиканту 2,4-ДА зумовлений його здатністю відновлювати ферментативну ланку САЗ (СОД, каталаза, церулоплазмін) і нормалізувати рівень відновленого глутатіону.

Введення мексидолу позитивно впливало на загальносоматичні показники тварин: щури добре переносили препарат, не виявляли агресивності. Під час експерименту збільшилася маса тварин, але на тлі 30-денного впливу токсиканту загинула одна тварина. Під час біохімічних досліджень виявлено зниження рівня показників ВРПО ліпідів у тканинах мозку та крові, стабілізації антиоксидантної забезпеченості





організму і відновлення активності АФ при 30-денному впливі. В основі антиоксидантної дії мексидолу лежить його здатність пригнічувати стадію ініціації ВРПО ліпідів, яка зумовлена утворенням активних форм кисню та появою каталітично активних іонів заліза. Також можлива пряма взаємодія з ліпофільними та водорозчинними радикалами у фосfolіпідних мембранах у точках радикалоутворення, що зменшує напруження ферментативної ланки антиоксидантного захисту і вплив на системи енергетичного забезпечення [1; 13]. При ураженні ксенобіотиками, а саме пестицидом 2,4-ДА, препарат стимулює функції печінки і підвищує стійкість мембран до процесів ВРПО ліпідів [3; 5].

Отримані результати підтверджують дані щодо протекторних властивостей похідних 3-оксипіридину — мексидолу та вітчизняного препарату тіотриазоліну, що дає можливість застосування синтетичних антиоксидантів мексидолу і тіотриазоліну з профілактичною та лікувальною метою при токсичному впливі на організм пестициду амініної солі 2,4-ДА.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беловол А. Н. Метаболическая терапия при ишемической болезни сердца у лиц пожилого возраста / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Ліки України. — 2012. — № 5. — С. 51–55.
2. Брусов О. С. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина / О. С. Брусов, А. М. Герасимов, Л. Ф. Панченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1976. — № 1. — С. 33–35.
3. Воронина Т. А. Мексидол: основные нейропсихотропные эффекты и механизм действия мексидола / Т. А. Воронина // Фарматека. — 2009. — № 6. — С. 28–31.
4. Гаврилов В. Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Л. М. Мажуль // Вопросы медицинской химии. — 1987. — Т. 33, № 1. — С. 118–122.

5. Забруднення питної води залишками пестицидів, нормування, методи контролю, оцінка ризику / М. Г. Проданчук, О. П. Кравчук, І. В. Лепешкін [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. — 2007. — № 2. — С. 15–18.

6. Ковальчук В. В. Влияние мексидола на неврологический дефицит, социально-бытовую адаптацию и синдромы неглекта и «отталкивания» у пациентов после инсульта / В. В. Ковальчук // Журнал неврологии и психиатрии. — 2011. — № 12. — С. 52–57.

7. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.

8. Методы диагностики метаболических нарушений при атеросклерозе и дифференцированное применение противоатеросклеротических средств : метод. рекомендації / О. Н. Воскресенский, В. А. Дельва, М. А. Дудченко. — Полтава : ПМСИ, 1982. — 26 с.

9. Мишина Т. Н. Влияние пестицидов и металлов переменной валентности на антиоксидантный статус у крыс / Т. Н. Мишина, Л. А. Чеснокова // Успехи современного естествознания. — 2013. — № 8. — С. 42–43.

10. Ракитский В. Н. К вопросу о патогенезе воздействия феноксисоединений на организм теплокровных / В. Н. Ракитский, Е. Г. Чхвиркия, Е. Б. Попова // Успехи современной биологии. — 2004. — Т. 124, № 5. — С. 461–467.

11. Шелест А. Н. Влияние лечения тиотриазолином на состояние перекисного окисления липидов и уровни иммуновоспалительных и вазоактивных эндотелиальных факторов у больных с хронической сердечной недостаточностью и helicobacter pylori-негативными гастропатиями / А. Н. Шелест, А. Н. Бойко, Я. К. Радзишевская // Международный медицинский журнал. — 2012. — № 1. — С. 46–49.

12. Эффективность тактивина и токоферола для коррекции гепатотоксического действия аминной соли 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты / З. А. Ахметченко, Н. А. Муфалазова, Л. Ф. Муфалазова [и др.] // Казанский медицинский журнал. — 2013. — Т. XCIV, вып. 5. — С. 651–655.

13. Mildronate improves the exercise tolerance in patients with stable angina: results of a long term clinical trial / V. Dzerve, D. Matisone, Y. Pozdnyakov, R. Oganov // Sem. Cardiovasc. Med. — 2010. — Vol. 16 (3). — P. 1–8.

#### REFERENCES

1. Belovol A.N., Knyazkova I.I. Metabolic therapy with heart disease in elderlies. *Liky Ukrainy* 2012; 5: 51-55.

2. Brusov O.S., Gerasimov A.M., Panchenko L.F. Influence of natural inhibitors of radical reactions on adrenalin autooxidation. *Bull. Exper. Biologii i Meditsyny* 1976; 1: 33-35.

3. Voronina T.A. Moxidol: basic neuropsychotropic effects and mechanism of action. *Farmateka* 2009; 6: 28-31.

4. Gavrilov V.B., Gavrilova A.R., Mazhul' L.M. Analysis of methods for the determination of lipid peroxidation products in the blood serum test with thiobarbituric acid. *Voprosy med. khimii* 1987; 33 (1): 118-122.

5. Prodanchuk M.G., Kravchuk O.P., Leposhkin I.V., Medvedev V.I., Grinko A.P., Gminko P.G., Ivanova L.P. Contamination of water with the rests of pesticides, norming, control methods, risk estimation. *Suchasni problemy toksikologii* 2007; 2: 15-18.

6. Kovalchuk V.V. Moxidole influence on neurological deficit, social adaptation and syndromes neglect and "repulsion" in patients after stroke. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii* 2011; 12: 52-57.

7. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.Ye. Method for determination of catalase activity. *Laboratornoe delo* 1988; 1: 16-19.

8. Voskresensky O.N., Delva V.A., Dudchenko M.A. Methods of diagnosis of metabolic disorders in atherosclerosis and differentiated application of antisclerosis means [method. recomm.]. Poltava, PMSI, 1982. 26 p.

9. Mishina T.N., Chesnokova L.A. The effect of pesticides and transition metals antioxidant status in rats. *Uspekhi sovremennoy biologii* 2013; 8: 42-43.

10. Rakitsky V.N., Chhvirkiya E.G., Popov E.B. On the pathogenesis fenoxyc compound impact on warm-blooded. *Uspekhi sovremennoy biologii* 2004; 124 (5): 461-467.

11. Shelest A.N. Thyotriazolone therapy effect on the lipid peroxidation condition and levels of immune inflammatory and vasoactive endothelial factors in patients suffering from chronic heard failure and helicobacter pylori-negarive gastropathies. *Mezh-dunarodnyy meditsinskiy zhurnal* 2012; 1: 46-49.

12. Ahmetchenko Z.A., Mufalazova N.A., Mufalazova L.F., Remezova A.D. Tactivin and tocopherol efficiency for correction of hepatotoxic action of amine salt of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Kazan Meditsin. Zhurnal* 2013; XCIV, iss. 5: 651-655.

13. Dzerve V., Matisone D., Pozdnyakov Y., Oganov R. Mildronate improves the exercise tolerance in patients with stable angina: results of a long term clinical trial. *Sem. Cardiovasc. Med.* 2010; 16 (3): 1-8.

Надійшла 20.06.2014





УДК 616.33-089.87-089-07

В. В. Грубник, В. П. Голляк,  
Р. С. Парфентьев, М. С. Кресюн

## ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПОСЛЕ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ РУКАВНОЙ РЕЗЕКЦИИ ЖЕЛУДКА

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

УДК 616.33-089.87-089-07

В. В. Грубник, В. П. Голляк, Р. С. Парфентьев, М. С. Кресюн  
ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПОСЛЕ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ  
РУКАВНОЙ РЕЗЕКЦИИ ЖЕЛУДКА

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

Во многих странах мира наблюдается резкое увеличение количества больных с избыточной массой тела. Специальные бариатрические операции позволяют достичь существенного снижения массы тела и улучшения качества жизни, а также лечения от метаболического синдрома. Рукавная резекция желудка является достаточно эффективным методом лечения ожирения. Цель настоящего исследования — изучить изменения углеводного и липидного обмена у больных с морбидным ожирением после рукавной резекции желудка. С 2007 по 2013 гг. в нашей клинике рукавная резекция выполнена у 102 больных с морбидным ожирением. Масса тела пациентов была от 89 до 192 кг, индекс массы тела колебался от 38 до 56 кг/м<sup>2</sup>. Отдаленные результаты изучали в сроки 3, 6, 12, 18, 24 мес. Средняя масса тела пациентов за 6 мес. снизилась с (124,3±9,6) до (91,2±11,3) кг ( $p<0,01$ ), индекс массы тела — с (44,7±6,8) до (33,4±5,9) кг/м<sup>2</sup> ( $p<0,01$ ). Биохимические исследования метаболизма через 12 мес. после операции показали достоверное снижение уровня глюкозы крови с (6,5±1,1) до (4,7±0,8) ммоль/л ( $p<0,05$ ). Также было прослежено влияние физических упражнений на углеводный и липидный обмен. Исследования показали, что лапароскопическая рукавная резекция желудка приводит не только к снижению веса пациентов, но и нормализует липидный и углеводный обмен.

**Ключевые слова:** морбидное ожирение, индекс массы тела, метаболический синдром, лапароскопическая рукавная резекция желудка, липидный и углеводный обмен.

UDC 616.33-089.87-089-07

V. V. Grubnik, V. P. Golliak, R. S. Parfentiev, M. S. Kresiun  
CHANGE OF LIPID AND CARBOHYDRATE METABOLISM AFTER THE SLEEVE GASTRECTOMY

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

**Introduction.** In many countries of the world the sharp increase in patients with excessive body weight is observed. Special bariatric operations allow to achieve essential decrease in body weight and improvement of quality life, and they also treat from a metabolic syndrome. The sleeve gastrectomy is rather efficient method of obesity treatment.

**The aim.** Studying change of carbohydrate and lipid metabolism in patients with morbid obesity after sleeve gastrectomy.

**Materials and methods.** From 2007 to 2013 in the clinic sleeve gastrectomy was executed in 102 patients with morbid obesity. Weight of patients was from 89 to 192 kg, index of body weight (IBW) fluctuated from 38 to 56 kg/m<sup>2</sup>. The remote results studied in terms 3, 6, 12, 18, 24 months.

**Results.** Average weight of patients in 6 months decreased from (124.3±9.6) to (91.2±11.3) kg ( $p<0.01$ ). The index of body weight decreased from (44.7±6.8) to (33.4±5.9) kg/m<sup>2</sup> ( $p<0.01$ ). Biochemical researches of metabolism in 12 months after the operation showed reliable decrease in blood glucose level from (6.5±1.1) to (4.7±0.8) mmol/l ( $p<0.05$ ). We also traced influence of physical exercises on a carbohydrate and lipid metabolism.

**Conclusions.** Our researches showed that the laparoscopic sleeve gastrectomy not only leads to weight reduction but also normalizes lipid and carbohydrate metabolism.

**Key words:** morbid obesity, index of body weight, metabolic syndrome, laparoscopic sleeve gastrectomy, lipid and carbohydrate metabolism.



## Введение

В последнее десятилетие во многих странах мира наблюдается резкое увеличение количества больных с избыточной массой тела. Эту проблему рассматривают как новую пандемию [1].

Последние эпидемиологические исследования показывают, что к 2015 г. в мире будет более 2,3 млрд людей с избыточной массой тела, причем у 800 млн будут наблюдаться признаки морбидного ожирения.

В США и странах Западной Европы количество людей, имеющих избыточную массу тела, составляет 25–30 % всего взрослого населения. К сожалению, медикаментозная и диетотерапия оказываются недостаточно эффективными у большинства таких пациентов. При индексе массы тела (ИМТ) свыше 40 кг/м<sup>2</sup> наблюдается развитие метаболического синдрома [2; 3], который включает в себя сахарный диабет 2 типа, гипертоническую болезнь, гиперлипидемию, инсулинорезистентность, ночное апноэ, гормональные нарушения, заболевания мышц и суставов и целый ряд других серьезных нарушений, приводящих к существенному сокращению продолжительности жизни, снижению ее качества и увеличению частоты преобладающих причин летального исхода, таких как инфаркты, инсульты, сердечно-сосудистая недостаточность, онкологические заболевания [4; 5].

Исследования последних десятилетий однозначно доказали, что специальные бариатрические операции позволяют добиться существенного снижения массы тела и улучшения качества жизни, а также излечения от метаболического синдрома [6; 7]. Среди бариатрических операций наибольшей популярностью пользуются: лапароскопическое бандажирование желуд-

ка, вертикальная гастропластика, различные варианты желудочного шунтирования [8; 9].

Относительно недавно хирургами D. Hess et al. [10] и P. Marceau et al. [11] была предложена новая операция, которую назвали «рукавная резекция желудка» (“sleeve gastrectomy”). Суть данной операции заключается в удалении части фундального отдела и тела желудка, где расположены специальные клетки, вырабатывающие интестинальный гормон грелин, который непосредственно влияет на аппетит и объем принимаемой пищи [12; 13]. В литературе имеется достаточно большое количество публикаций, свидетельствующих о высокой эффективности рукавной резекции желудка. После подобной операции стойко снижается масса тела пациента, исчезают симптомы метаболического синдрома, практически полностью излечивается сахарный диабет 2 типа.

Несмотря на растущую популярность этой новой бариатрической операции, механизм ее воздействия на метаболизм недостаточно изучен. **Цель** настоящего исследования — изучить изменения углеводного и липидного обмена у больных с морбидным ожирением после рукавной резекции желудка.

### Материалы и методы исследования

С 2007 по 2013 гг. в нашей клинике рукавная резекция выполнена у 102 больных с морбидным ожирением. Среди оперированных преобладали женщины (n=72). Возраст больных колебался от 29 до 62 лет. Средний возраст составил (39,6±5,2) года. Масса тела пациентов была от 89 до 192 кг, ИМТ колебался от 38 до 56 кг/м<sup>2</sup> и в среднем составил (44,7±6,8) кг/м<sup>2</sup>. У 23 пациентов диагностирован сахарный диабет 2 типа, в связи с чем они принимали инсулин либо таблетиро-

ванные противодиабетические препараты. У 37 пациентов в процессе обследования выявлены нарушения толерантности к глюкозе. Гипертоническая болезнь 1–2-й стадии была у 49 пациентов. Ночное апноэ беспокоило 36 пациентов. Нарушения менструального цикла отмечались у 27 женщин, снижение либидо и сексуальные расстройства зафиксированы у 22 мужчин. Метаболический синдром с инсулинорезистентностью диагностирован у 38 пациентов, 14 больных были ранее оперированы по поводу желчно-каменной болезни.

В предоперационном периоде все больные проходили тщательное клиническое и инструментальное обследование. Им проводили УЗИ органов брюшной полости, фиброгастродуоденоскопию и рентгеноскопию желудка. Кроме стандартных лабораторных исследований, у больных изучались в динамике до и в разные сроки после операции следующие показатели: глюкоза крови, гликозилированный гемоглобин, общий холестерин крови, триглицериды, липиды низкой и высокой плотности.

Все больные оперированы с помощью лапароскопической техники с использованием четырех-пяти троакаров. Для резекции тела и фундального отдела желудка использовали эндоскопические сшивающие аппараты GIA 60 фирм Ethicon либо Covidien. После мобилизации желудка по большой кривизне с помощью специального коагулятора LigaSure (Covidien) начинали резекцию желудка, отступая от привратника на 5–7 см. С помощью сшивающих аппаратов формировали желудочную трубку на толстом зонде диаметром 36–38 Fr. Линию механических швов перитонизировали с помощью непрерывного лапароскопического шва. Операцию заканчивали установкой





дренажа на 24 ч. На 3-и сутки после операции пациентам проводили рентгенконтрастное исследование желудка, после чего разрешали принимать жидкую пищу.

Отдаленные результаты изучали в сроки 3, 6, 12, 18, 24 мес. Для контроля больным проводили инструментальное, лабораторное биохимическое исследование, а также измеряли массу тела и вычисляли ИМТ.

### Результаты исследования и их обсуждение

Все пациенты были прооперированы лапароскопическим методом. Конверсия проведена у одного больного в связи с техническими проблемами сшивающих аппаратов. Летальных исходов и серьезных осложнений не было. Повторные операции были выполнены у двух больных в связи с кровотечением из линии механического шва. Повторные операции удалось выполнить лапароскопически, с хорошими непосредственными и отдаленными результатами. Несостоятельности швов не зафиксировано ни в одном случае. После операции больные быстро теряли избыточную массу тела в первые 6 мес. Средняя масса тела пациентов за 6 мес. снизилась с (124,3±9,6) до (91,2±11,3) кг ( $p<0,01$ ). Индекс массы тела уменьшился с (44,7±6,8) до (33,4±5,9) кг/м<sup>2</sup> ( $p<0,01$ ). Показатель потери избыточной массы тела (EWL, %) составил (49,5±11,7) %.

Биохимические исследования метаболизма через 12 мес. после операции показали достоверное снижение уровня глюкозы в крови с (6,5±1,1) до (4,7±0,8) ммоль/л ( $p<0,05$ ). Уровень гликозилированного гемоглобина также достоверно снизился с (5,2±0,3) до (3,69±0,50) %.

Содержание общего холестерина в крови уменьшилось с (6,7±0,8) до (5,9±0,7) ммоль/л, однако это снижение было не-

достоверным. В то же время уровень триглицеридов достоверно снизился с (2,3±0,4) до (1,4±0,3) ммоль/л ( $p<0,05$ ). Липопротеиды низкой плотности имели тенденцию к снижению: с (3,20±0,35) до (2,96±0,30) ммоль/л. Липиды высокой плотности возросли с (1,2±0,2) до (1,80±0,25) ммоль/л ( $p<0,01$ ; табл. 1).

Нами также прослежено влияние физических упражнений на углеводный и липидный обмен. Одна группа больных занималась активными физическими упражнениями после операции 2–3 раза в неделю по 1 ч (26 пациентов). Вторая группа больных специальными физическими упражнениями не занималась и вела обычный образ жизни (42 пациента). В табл. 2 представлено изменение показателей липидного и углеводного обмена у перечисленных двух групп через 12 мес. после операции.

Как видно из табл. 2, существенной разницы в уровне глюкозы в крови не выявлено. В то же время уровень общего холестерина в группе больных, занимающихся специальными упражнениями, был достоверно ниже, нежели у больных, которые вели обычный образ жизни: (5,1±0,4) и (6,5±0,5) ммоль/л соответственно ( $p<0,05$ ). Уровень триглицеридов также был ниже в группе активно занимающихся физическими упражнениями: (1,2±0,3) и (2,0±0,2) ммоль/л ( $p<0,05$ ; см. табл. 2).

Уровень липидов низкой плотности оказался достоверно ниже у пациентов, регулярно занимающихся физическими упражнениями: (2,62±0,30) и (3,15±0,24) ммоль/л соответственно ( $p<0,05$ ). Уровень липидов высокой плотности существенно не отличался в обеих группах. Важно также отметить, что у больных, зани-

Таблица 1

**Динамика изменения показателей углеводного и липидного обмена после рукавной резекции желудка, М±m**

Показатель	До операции	Через 12 мес. после операции	p
Глюкоза, ммоль/л	6,5±1,1	4,7±0,8	<0,05
Гликозилированный гемоглобин, %	5,2±0,3	3,69±0,50	<0,05
Холестерин, ммоль/л	6,7±0,8	5,9±0,7	>0,05
Триглицериды, ммоль/л	2,3±0,4	1,4±0,3	<0,05
Липиды высокой плотности, ммоль/л	1,2±0,2	1,80±0,25	<0,01
Липиды низкой плотности, ммоль/л	3,20±0,35	2,96±0,30	>0,05

Таблица 2

**Влияние физической нагрузки на показатели углеводного и липидного обмена у больных, перенесших рукавную резекцию желудка, ммоль/л, М±m**

Показатель	1-я группа, n=26	2-я группа, n=42	p
Глюкоза	4,2±0,7	5,1±0,6	>0,05
Холестерин	5,1±0,4	6,5±0,5	<0,05
Триглицериды	1,2±0,3	2,0±0,2	<0,05
Липиды высокой плотности	1,6±0,2	1,4±0,3	>0,05
Липиды низкой плотности	2,62±0,30	3,15±0,24	<0,05

Примечание. 1-я группа — после физической нагрузки; 2-я группа — без физической нагрузки.





мающихся активными упражнениями, ИМТ был существенно ниже, нежели у тех, которые не занимались физической нагрузкой: ( $27,5 \pm 2,6$ ) и ( $34,0 \pm 2,8$ ) кг/м<sup>2</sup> соответственно. Таким образом, наши исследования показали, что новая бариатрическая операция — лапароскопическая рукавная резекция желудка — не только приводит к снижению массы тела, но и нормализует липидный и углеводный обмен.

По данным литературы, после рестриктивных операций, таких как бандажирование желудка, вертикальная гастропластика, не наблюдается существенного снижения уровня холестерина в крови [14; 15]. С другой стороны, после шунтирующих операций, которые обладают мальабсорбтивным действием, наблюдается снижение уровня общего холестерина и липидов низкой плотности [14]. Считается, что такой эффект обусловлен меньшим всасыванием жиров из кишечника после шунтирующих операций.

Нами выявлено, что после лапароскопической рукавной резекции желудка наблюдаются снижение уровня глюкозы в крови, а также существенные изменения липидного профиля: достоверно снижается содержание триглицеридов и повышается уровень липидов высокой плотности. Подобные результаты получены чешскими авторами [16]. Такие показатели, по нашему мнению, обусловлены не только уменьшением объема потребляемой пищи после операции, то есть рестриктивным эффектом самой операции, но и гормональными изменениями в организме, которые наблюдаются после удаления клеток, продуцирующих интестинальный гормон грелин. В этом процессе могут быть задействованы интестинальные гормоны — глюкагонподобный пептид (GLP), а также пептид YY [12; 13].

Известно, что интенсивные физические упражнения положительно влияют на сердечно-сосудистую систему больных с избыточной массой тела [8; 9]. В то же время было показано, что у ряда больных с избыточной массой тела наблюдается нормальный уровень холестерина и других липидов [10; 17]. Физические упражнения у таких больных, как правило, не приводят к существенному снижению уровня холестерина в крови [18; 19]. В то же время, как было показано, у пациентов с выраженным повышением холестерина физическая нагрузка приводит к нормализации показателей липидного обмена [12; 13].

В наших исследованиях отмечено достоверное снижение уровня холестерина у больных, которые после операции занимались активной физической нагрузкой. У них отмечалось также снижение уровня триглицеридов и достоверное снижение липидов низкой плотности. Эти данные позволяют считать, что для полной реабилитации больных с морбидным ожирением важна не только успешно выполненная бариатрическая операция, следует также существенно изменить образ жизни пациентов: убедить их перейти на низкокалорийную диету и активно заниматься физическими упражнениями. Такая тактика позволяет не только добиться снижения массы тела у оперированных больных, но и существенно улучшить их самочувствие за счет нормализации метаболизма обмена веществ.

Важно отметить, что практически у всех пациентов после операции достоверно снижался уровень глюкозы в крови. На подобный эффект бариатрических операций указывают и другие авторы [20; 21], которые отмечают высокий уровень ремиссии сахарного диабета 2 типа после лапароскопических рукавных резекций

желудка. В механизме нормализации углеводного обмена, в первую очередь, участвует фактор снижения калорийности потребляемой пищи. В то же время имеются данные, что интестинальный гормон грелин, уровень которого достоверно снижается после рукавной резекции желудка, также участвует в регуляции углеводного обмена [22].

## Выводы

Таким образом, проведенные исследования убедительно показали, что лапароскопические рукавные резекции желудка являются высокоэффективным методом лечения морбидного ожирения. Они способствуют стойкому снижению массы тела пациента и нормализуют углеводный и липидный обмен. Специальные физические упражнения у оперированных больных позволяют нормализовать липидный метаболизм и должны быть включены в комплекс лечебных мероприятий после бариатрических операций.

## ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Obesity. Preventing and Managing the Global Epidemic // World Health Organization Tech Rep Ser. — 2000. — N 894.
2. Sullivan P. W. The impact of obesity on diabetes, hyperlipidemia and hypertension in the United States / P. W. Sullivan, V. H. Ghushchyan, R. Ben-Joseph // Qual Life Res. — 2008. — Vol. 17. — P. 1063–1071.
3. Association of hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome with obesity: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004 / N. T. Nguyen, C. P. Magno, K. T. Lane [et al.] // J. Am. Coll. Surg. — 2008. — Vol. 207. — P. 928–934.
4. Dadan J. New approaches in bariatric surgery / J. Dadan, P. Iwacewicz, H. R. Hady // Videosurgery Miniinv. — 2008. — Vol. 3. — P. 66–70.
5. What are the long-term benefits of weight reducing diets in adults? A systematic review of randomized controlled trials / A. Avenell, T. J. Brown, M. A. McGee [et al.] // J. Hum. Nutr. Diet. — 2004. — Vol. 17. — P. 317–335.
6. Do incretins play a role in the remission of type 2 diabetes after gastric



bypass surgery: what are the evidence? / M. Bose, B. Olivan, J. Teixeira [et al.] // *Obes. Surg.* – 2009. – Vol. 19. – P. 217–229.

7. Wylezoł M. Polish recommendations for bariatric surgery / M. Wylezoł, K. Paśnik, S. Dąbrowiecki // *Videosurgery Miniinv.* – 2009. – Vol. 4. – P. 5–8.

8. *Inter-disciplinary European guidelines on surgery of severe obesity* / M. Fried, V. Hainer, A. Basdevant [et al.] // *Int. J. Obes.* – 2007. – Vol. 31. – P. 569–577.

9. *Twenty years of minimally invasive surgery in the Czech Republic* / M. Duda, A. Gryga, S. Czudek [et al.] // *Videosurgery Miniinv.* – 2011. – Vol. 6. – P. 42–47.

10. Hess D. Biliopancreatic diversion with a duodenal switch / D. Hess // *Obes. Surg.* – 1998. – Vol. 8. – P. 267–282.

11. *Biliopancreatic diversion with gastrectomy as surgical treatment of morbid obesity* / P. Marceau, S. Biron, R. St Georges [et al.] // *Obes. Surg.* – 1991. – Vol. 1. – P. 381–387.

12. *Effects of sleeve gastrectomy and medical treatment for obesity on glucagon-like peptide 1 levels and glucose homeostasis in non-diabetic subjects* / J. P. Valderas, V. Irribarra, L. Rubio [et al.] // *Obes. Surg.* – 2011. – Vol. 21. – P. 902–909.

13. *Sleeve gastrectomy and gastric banding: effects on plasma ghrelin levels* / F. B. Langer, R. Hoda, A. Bohdjalian [et al.] // *Obes. Surg.* – 2005. – Vol. 15. – P. 1024–1029.

14. *Impact of restrictive (sleeve gastrectomy) vs hybrid bariatric surgery (Roux-en-Y gastric bypass) on lipid profile* / D. Benaiges, J. A. Fores-Le-Roux, J. Pedro-Botet [et al.] // *Obes. Surg.* – 2012. – Vol. 22. – P. 1268–1275.

15. *Metabolic or bariatric surgery? Long-term effect of malabsorptive vs restrictive bariatric techniques in body composition and cardiometabolic risk factors* / C. Lubrano, S. Mariani, M. Badiali [et al.] // *Int. J. Obes. (Lond).* – 2010. – Vol. 34. – P. 1404–1414.

16. *Effects of sleeve gastrectomy on parameters of lipid and glucose metabolism in obese women — 6 months after operation* / M. Bucga, P. Holéczy, Z. Svagera [et al.] // *Wideochir Inne Tech Malo Inwazyjne.* – 2013, Mar. – Vol. 8 (1). – P. 22–28.

17. *Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins* / W. E. Kraus, J. A. Houmard, B. D. Duscha [et al.] // *N. Eng. J. Med.* – 2002. – Vol. 347. – P. 1483–1492.

18. Sjöström L. Bariatric surgery and reduction in morbidity and mortality: experiences from the SOS study /

L. Sjöström // *Int. J. Obes.* – 2008. – Vol. 32. – P. S93–97.

19. *Splenic infarction as a complication of laparoscopic sleeve gastrectomy* / M. Michalik, R. Budzicki, M. Oriowski [et al.] // *Videosurgery Miniinv.* – 2011. – Vol. 6. – P. 92–98.

20. Fleq J. L. Aerobic exercise in the elderly: a key to successful aging / J. L. Fleq // *Discov. Med.* – 2012. – Vol. 13. – P. 223–228.

21. Kones R. Primary prevention of coronary heart disease: integration of new data, evolving views, revised goals, and role of rosuvastatin in management. A comprehensive survey / R. Kones // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2011. – Vol. 5. – P. 325–328.

22. *Sleeve gastrectomy provides a better control of diabetes by decreasing ghrelin in the diabetic Goto-Kakizaki rats* / F. Li, G. Zhang, J. Liang [et al.] // *J. Gastrointest. Surg.* – 2009. – Vol. 13. – P. 2302–2308.

## REFERENCES

1. World Health Organization. Obesity. Preventing and Managing the Global Epidemic. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* 2000; 894.

2. Sullivan P.W., Ghushchyan V.H., Ben-Joseph R. The impact of obesity on diabetes, hyperlipidemia and hypertension in the United States. *Qual. Life Res.* 2008; 17: 1063–1071.

3. Nguyen N.T., Magno C.P., Lane K.T. et al. Association of hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome with obesity: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. *J. Am. Coll. Surg.* 2008; 207: 928–934.

4. Dadan J., Iwacewicz P., Hady H.R. New approaches in bariatric surgery. *Videosurgery Miniinv.* 2008; 3: 66–70.

5. Avenell A., Brown T.J., McGee M.A. et al. What are the long-term benefits of weight reducing diets in adults? A systematic review of randomized controlled trials. *J. Hum. Nutr. Diet* 2004; 17: 317–335.

6. Bose M., Olivan B., Teixeira J. et al. Do incretins play a role in the mission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: what are the evidence? *Obes. Surg.* 2009; 19: 217–229.

7. Wylezoł M., Paśnik K., Dąbrowiecki S. Polish recommendations for bariatric surgery. *Videosurgery Miniinv.* 2009; 4: 5–8.

8. Fried M., Hainer V., Basdevant A. et al. *Inter-disciplinary European guidelines on surgery of severe obesity.* *Int. J. Obes.* 2007; 31: 569–577.

9. Duda M., Gryga A., Czudek S. et al. *Twenty years of minimally invasive surgery in the Czech Republic.* *Videosurgery Miniinv.* 2011; 6: 42–47.

10. Hess D., Hess D. Biliopancreatic diversion with a duodenal switch. *Obes. Surg.* 1998; 8: 267–282.

11. Marceau P., Biron S., St Georges R. et al. Biliopancreatic diversion with gastrectomy as surgical treatment of morbid obesity. *Obes. Surg.* 1991; 1: 381–387.

12. Valderas J.P., Irribarra V., Rubio L. et al. Effects of sleeve gastrectomy and medical treatment for obesity on glucagon-like peptide 1 levels and glucose homeostasis in non-diabetic subjects. *Obes. Surg.* 2011; 21: 902–909.

13. Langer F.B., Hoda R., Bohdjalian A. et al. Sleeve gastrectomy and gastric banding: effects on plasma ghrelin levels. *Obes. Surg.* 2005; 15: 1024–1029.

14. Benaiges D., Fores-Le-Roux J.A., Pedro-Botet J. et al. Impact of restrictive (sleeve gastrectomy) vs hybrid bariatric surgery (Roux-en-Y gastric bypass) on lipid profile. *Obes. Surg.* 2012; 22: 1268–1275.

15. Lubrano C., Mariani S., Badiali M. et al. Metabolic or bariatric surgery? Long-term effect of malabsorptive vs restrictive bariatric techniques in body composition and cardiometabolic risk factors. *Int. J. Obes. (Lond).* 2010; 34: 1404–1414.

16. Bucga M., Holéczy P., Svagera Z., Svorc P. Jr, Zavadilová V. Effects of sleeve gastrectomy on parameters of lipid and glucose metabolism in obese women — 6 months after operation. *Wideochir Inne Tech Malo Inwazyjne* 2013, Mar; 8 (1): 22–28.

17. Kraus W.E., Houmard J.A., Duscha B.D. et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N. Eng. J. Med.* 2002; 347: 1483–1492.

18. Sjöström L. Bariatric surgery and reduction in morbidity and mortality: experiences from the SOS study. *Int. J. Obes.* 2008; 32: S93–97.

19. Michalik M., Budzicki R., Oriowski M. et al. Splenic infarction as a complication of laparoscopic sleeve gastrectomy. *Videosurgery Miniinv.* 2011; 6: 92–98.

20. Fleq J.L. Aerobic exercise in the elderly: a key to successful aging. *Discov. Med.* 2012; 13: 223–228.

21. Kones R. Primary prevention of coronary heart disease: integration of new data, evolving views, revised goals, and role of rosuvastatin in management. A comprehensive survey. *Drug Des. Devel. Ther.* 2011; 5: 325–328.

22. Li F., Zhang G., Liang J. et al. Sleeve gastrectomy provides a better control of diabetes by decreasing ghrelin in the diabetic Goto-Kakizaki rats. *J. Gastrointest. Surg.* 2009; 13: 2302–2308.

Поступила 20.05.2014



Ю. І. Карпенко, О. В. Горячий

## ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ ЯКОСТІ ЖИТТЯ ПІСЛЯ ПРОЦЕДУРИ ЕТАПНОЇ МОДИФІКАЦІЇ ЕЛЕКТРОФІЗІОЛОГІЧНОГО СУБСТРАТУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ТРИВАЛО ПЕРСИСТУЮЧОЮ ФОРМОЮ ФІБРИЛЯЦІЇ ПЕРЕДСЕРДЬ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна,  
КУ «Одеська обласна клінічна лікарня», Одеса, Україна

УДК 616.12-008.318-085.844-037-08

Ю. И. Карпенко, А. В. Горячий

### ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПОСЛЕ ПРОЦЕДУРЫ ЭТАПНОЙ МОДИФИКАЦИИ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СУБСТРАТА У ПАЦИЕНТОВ С ДЛИТЕЛЬНО ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ ФОРМОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,*

*КП «Одесская областная клиническая больница», Одесса, Украина*

**Цель** работы — дать оценку качества жизни после процедуры модификации электрофизиологического субстрата у пациентов с длительно персистирующей формой фибрилляции предсердий.

В зависимости от вида выполненного хирургического лечения все пациенты (n=160) были разделены на группы: в 1-й группе (n=77) выполнялась процедура Box Lesion по методике С. Pappone, во 2-й (n=83) проводилась процедура этапной модификации электрофизиологического субстрата (линейная изоляция легочных вен, изоляция задней стенки левого предсердия, абляция левого истмуса, дополнительные линии абляции по передней стенке левого предсердия, коронарного синуса).

Расширение зон влияния способствует модификации большего количества патофизиологических механизмов, участвующих в поддержании фибрилляции предсердий. Модификация электрофизиологического субстрата — наиболее адекватный метод лечения для повышения качества жизни пациентов с длительно персистирующей фибрилляцией предсердий.

**Ключевые слова:** фибрилляция предсердий, зоны комплексной фракционированной активности, ремоделирование левого предсердия, качество жизни.

UDC 616.12-008.318-085.844-037-08

Yu. I. Karpenko, O. V. Goriachy

### ELECTROPHYSIOLOGICAL SUBSTRATE MODIFICATION AT CATHETER TREATMENT OF PERSISTENT ATRIAL FIBRILLATION: LONG-TERM RESULTS

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine,*

*The Odessa Regional Hospital, Odessa, Ukraine*

**The aim** was to evaluate quality of life after procedure modification of electrophysiological substrate in patients with long standing atrial fibrillation (LSAF).

**Materials and methods.** The study included 160 patients with LSAF. The average age of the entire group was 60.4±9.5 (75.6% men, 24.4% women). Duration of arrhythmia history (6.3±3.4) year, the period of the last episode of AF (13.9±3.2) months. The use of combinations of antiarrhythmic drugs I, III class with a positive effect (mean (2.1±0.9) drugs). The average number of attempts cardioversion was 3.2±0.8 for 1 patient. Depending on the type of surgery performed, patients were divided into the following groups: I group (n=77) have been performed the Box Lesion procedure by C. Pappone, II group (n=83) have been performed staged procedure of electrophysiological substrate modifications (ESM) (linear PLV isolation, isolation of LA rear wall, ablation of mitral istmus, additional ablation lines on the anterior wall of the LA and coronary sinus). Surgeries have been performed on complex electrophysiological EP Workmate (St. Jude Medical, USA). Electroanatomical mapping was carried out in terms of the navigation system NavX (St. Jude Medical, USA).

**Results and discussion.** So, in the study group averaged PF score was lower at 53.8±8.8 than in the general population (p<0.0011) and the assessment of its prospects for treatment and GH 44.9±9.9 points (p<0.0011). Physical functioning index was 83.8 in healthy and 38.9±0.6 for patients before AF treatment; 3 months after the procedure, the figure was 68.7±0.9 for subgroup 1a, 69.9±0.9 for the subgroup 1b, 78.6±0.8 — subgroup 2a, and 81.7±0.6 for the subgroup 2b (p<0.05); 6 months 71.1±0.8, 76.1±0.8, 81.1±1.1, and 2b — 83.2±1.0, respectively (p<0.05). Index of role functioning was 80.9 in healthy subjects and 39.9±0.2 in patients before ablation (p<0.05); 3 months after the procedure the figure was 57.8±0.8 for subgroup 1a, 61.9±1.1 for the subgroup 1b, 69.6±1.0 — subgroup 2a, and 71.7±1.2 for the subgroup 2b (p<0.05); 6 months 59.3±0.9, 63.1±1.2, 72.8±1.1, and 74.6±1.1, respectively (p<0.05). General health was 72.1 in healthy subjects and 48.7±1.1 in patients before surgery treatment (p<0.05); 3 months after the procedure, the figure was 56.1±0.9 for subgroup 1a, 58.0±0.6





for subgroup 1b,  $63.6 \pm 0.8$  — subgroup 2a, and  $65.8 \pm 1.1$  for the subgroup 2b ( $p < 0.05$ ); 6 months  $60.0 \pm 1.1$ ,  $65.1 \pm 1.0$ ,  $69.2 \pm 1.1$ , and  $71.4 \pm 0.9$  respectively ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** Expanding spheres of influence contributes to the modification of more pathophysiological mechanisms involved in the maintenance of AF. Modification of electrophysiological substrate is the most appropriate treatment to improve the quality of life of patients with longstanding AF.

**Key words:** atrial fibrillation, complex fractionated activity zone, remodeling of the left atrium, quality of life.

В останнє десятиліття катетерна радіочастотна абляція (РЧА) відіграє важливу роль як альтернативний метод лікування фібриляції передсердь (ФП).

Серед багатьох методів антральна ізоляція легеневих вен (ЛВ) є найбільш поширеною стратегією [1]. Однак окремий показник успіху даного підходу порівняно кращий у пацієнтів із пароксизмальною формою, ніж із персистуючою [2; 5; 6; 9], що вказує на відмінність між базовими механізмами ФП [5]. У ранніх теоріях ФП лідируючі позиції відводять тригерному механізму, тимчасом як тривала аритмія призводить до відповідних змін у субстраті, який промотує персистуючу форму ФП [6]. У результаті цього виникає потреба у додатковій модифікації субстрату у даної когорти пацієнтів [4]. Сьогодні серед безлічі стратегій модифікації електрофізіологічного субстрату провідну роль відіграють абляція зон комплексної фракціонованої активності (КФА), додаткові лінійні впливи, обробка зони коронарного синуса та цільових гангліонарних плексусів [7]. Проте залишається не з'ясованим, чи покращується якість життя у даної групи пацієнтів [3; 8].

**Мета роботи** — дати оцінку якості життя після процедури модифікації електрофізіологічного субстрату у пацієнтів із тривало персистуючою формою ФП (ТПФП).

### Матеріали та методи дослідження

У дослідження були включені 160 пацієнтів із ТПФП, що тривала більше року та була резистентною до медикаментозної терапії, які перебували на лікуванні й обстеженні в Регіональному центрі кардіохірургії

на базі Обласної клінічної лікарні (Одеса) у 2010–2013 рр.

Середній вік пацієнтів становив  $(60,4 \pm 9,5)$  року (75,6 % чоловіків і 24,4 % жінок). Тривалість аритмологічного анамнезу —  $(6,3 \pm 3,4)$  року, а останнього епізоду ФП —  $(13,9 \pm 3,2)$  міс. Застосування комбінацій антиаритмічних препаратів I, III класів без позитивного ефекту — у середньому  $(2,1 \pm 0,9)$  антиаритмічного препарату. Середня кількість спроб кардіоверсії —  $3,2 \pm 0,8$  на одного пацієнта.

Для профілактики системних тромбоемболій усім пацієнтам за 1 міс. до абляції та через 2 міс. після абляції призначали варфарин в індивідуальній дозі під контролем МНВ 2–3.

Залежно від виду виконаного хірургічного лікування пацієнти були розподілені на групи:

— хворим 1-ї групи ( $n=77$ ) виконували процедуру Box Lesion за методикою С. Рарроне, у тому числі: 1а група — 39 (51 %) осіб — без додаткового впливу на зони КФА; 1б група — 38 (49 %) осіб — із додатковим впливом на зони КФА;

— хворим 2-ї групи ( $n=83$ ) проводили процедуру етапної модифікації електрофізіологічного субстрату (ЕМЕС), що включала лінійну ізоляцію ЛВ, ізоляцію задньої стінки лівого передсердя, абляцію лівого істмуса, додаткові лінії абляції по передній стінці лівого передсердя, коронарного синуса, у тому числі: 2а група — 40 (48 %) осіб — без додаткового впливу на зони КФА; 2б група — 43 (52 %) особи — з додатковим впливом на зони КФА.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою системного пакета прикладних програм "Statistica 10 Enterprise 10.0.1011.6".

Оперативні втручання проводили на електрофізіологічному комплексі EP Workmate (St. Jude Medical, США). Для діагностичної стимуляції використовували електростимулятор EP-4-WorkMate (США). Електроанатомічне картування здійснювали в умовах навігаційної системи NavX (St. Jude Medical, США).

Якість життя пацієнтів було оцінено до операції та через 3, 6 і 12 міс. з використанням опитувальника "Health Status Survey" (SF-36) [11]. Кількісно оцінюються такі показники:

1. Фізичне функціонування, що відображає ступінь, при якому фізичний стан обмежує виконання фізичних навантажень (самообслуговування, ходьба, піднімання сходів, перенесення важких предметів тощо).

2. Рольове функціонування, зумовлене фізичним станом, — вплив фізичного стану на повсякденну рольову діяльність (роботу, виконання повсякденних обов'язків).

3. Інтенсивність болю та його вплив на здатність займатися повсякденною діяльністю, включаючи роботу хатню і поза домівкою.

4. Загальний стан здоров'я — оцінка хворим стану свого здоров'я нині та перспектив лікування.

5. Життєва активність передбачає відчуття себе сповненим сил і енергії або, навпаки, знесиленим.

6. Соціальне функціонування визначається ступенем, при якому фізичний або емоційний стан обмежує соціальну активність (спілкування).

7. Рольове функціонування, зумовлене емоційним станом, передбачає оцінку ступеня, при якому емоційний стан заважає виконанню роботи або іншої повсякденної діяльності (вклю-





чаючи великі витрати часу, зменшення обсягу роботи, зниження її якості тощо).

8. Психічне здоров'я характеризує настрій (наявність депресії, тривоги, загальний показник позитивних емоцій) [6].

Шкали групуються за двома показниками:

1) фізичний компонент здоров'я — фізичне функціонування, рольове функціонування, зумовлене фізичним станом, інтенсивність болю, загальний стан здоров'я;

2) психологічний компонент здоров'я — психічне здоров'я, рольове функціонування, зумовлене емоційним станом, соціальне функціонування, життєва активність.

*Процедура С. Pappone.* У пацієнтів 1-ї групи (n=77) абляцію проводили зрошуванням електродом (7,5 Fr, NaviStar ThermoCool, Biosense Webster, США), який доставляв до субстрату радіочастотну енергію (IBI-1500T, St. Jude Medical) з параметрами 42 °С, 35–40 В, при швидкості зрошення 12 мл/хв. Тривалість кожної аплікації становила 45–60 с.

Під час абляції серією радіочастотних впливів (point-to-point) створювалася циркулярна замкнена лінія навколо правих або лівих ЛВ на відстані 3–10 мм від анатомічних отворів. Після цього створювали лінію між ізольованими колекторами по даху лівого передсердя, виконували абляцію лівопередсердного перешийка від фіброзного кільця мітрального клапана до нижнього полюса лівого колектора.

Ізолювальний ефект додаткових ліній оцінювали при побудові активаційної карти, після чого в режимі propagation-map визначали динаміку активації лівопередсердного перешийка і даху лівого передсердя щодо створених ліній і документували повну блокаду проведення на їхньому рівні.

*Етапне усунення ФП.* На першому етапі пацієнтам 2-ї групи (n=83) проводили ізоля-

цію вічок ЛВ за методикою Box Lesion із додатковими впливами по передній і задній стінках лівого передсердя, ендо- й епікардіальним впливом на коронарний синус. На другому етапі виконували абляцію зон КФА, для чого використовували зрошувальний електрод (7,5 Fr, NaviStar ThermoCool, Biosense Webster, США), який доставляв до субстрату радіочастотну енергію (IBI-1500T, St. Jude

Medical) з параметрами 42 °С, 35–40 В при швидкості зрошення 12 мл/хв. Тривалість кожної аплікації становила 45–60 с. Кінцевою точкою процедури вважали зникнення КФА-потенціалів у зазначених ділянках із реєстрацією ізоелектричної лінії (рис. 1).

Ефективність абляції зон КФА оцінювали при повторній побудові активаційної карти лівого передсердя (рис. 2).

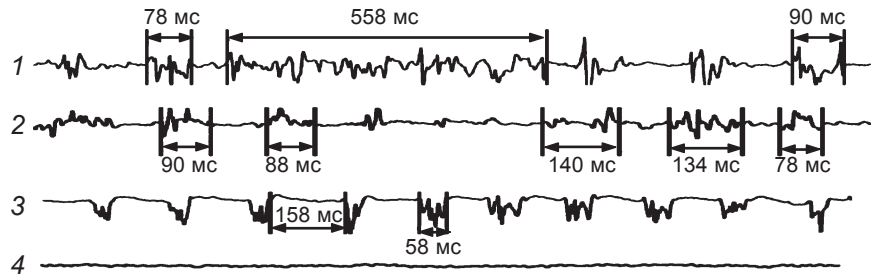


Рис. 1. Динамічна зміна зон комплексної фракціонованої активності під час абляції: 1 — первинна зона; 2 — абляція-організація; 3 — зменшення високочастотної складової; 4 — досягнення ефекту

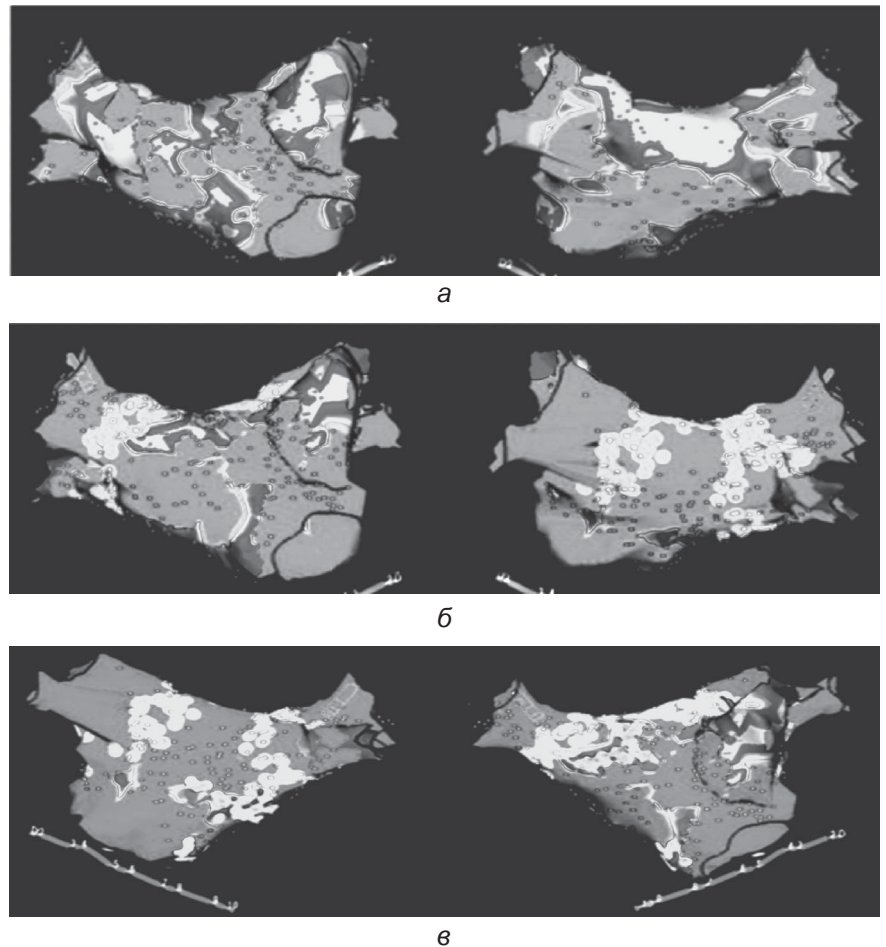


Рис. 2. 3D-реконструкція зон комплексної фракціонованої активності: а — до ізоляції легеневих вен; б — після ізоляції легеневих вен; в — комбінована методика



Після закінчення процедури усім пацієнтам проводилася спроба електричної індукції ФП почашальною стимуляцією з пар CSprox і CSdist із частотою від 200 до 400 імпульсів за 1 хв із повторенням цієї послідовності на тлі фармакологічної провокації — внутрішньовенної інфузії ізопроterenолу (0,5–3 мкг/хв).

### Результати дослідження та їх обговорення

Результати численних рандомізованих досліджень свідчать про необхідність керування об'єктивними вимірами якості життя при виборі адекватного методу лікування ФП [10].

У зв'язку з цим ми вивчили якість життя пацієнтів досліджуваних груп, керуючись даними опитувальника SF-36. Отримані дані опитування перед лікуванням показали значно нижчі критерії, ніж у загальній популяції України.

Основну відмінність демонструвала шкала фізичного функціонування і загальної захворюваності. Так, у досліджуваній групі пацієнтів оцінка фізичного функціонування у середньому була нижчою на (53,8±8,8) бала, ніж у загальній популяції ( $p < 0,0011$ ), а оцінка перспектив свого лікування і загальної захворюваності — на (44,9±9,9) бала ( $p < 0,0011$ ; рис. 3).

У віддаленому післяопераційному періоді якість життя пацієнтів з ТПФП прогресивно збільшувалася до 6 міс. (див. рис. 3). Необхідно враховувати, що на динаміку якості життя у хворих суттєво впливали рецидиви ТПФП, необхідність повторних втручань та їх ефективність. В оцінку якості життя на 6-му місяці включені пацієнти з повторними РЧА, тому найбільш виражена динаміка зареєстрована серед показників фізичного компонента здоров'я.

**Фізичне функціонування.** Показник фізичного функціонування у здорових людей ста-

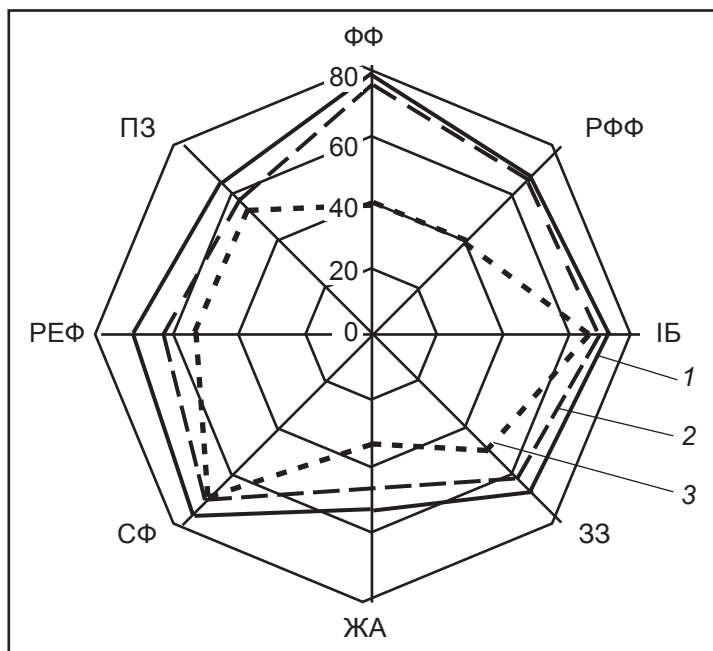


Рис. 3. Показники якості життя пацієнтів із тривало персистуючою фібриляцією передсердь початково, через 3 та 6 міс. (усі групи): 1 — початково; 2 — 3 міс.; 3 — 6 міс.; ФФ — фізичне функціонування; РФФ — рольове фізичне функціонування; ІБ — інтенсивність болю; 33 — загальна захворюваність; СФ — соціальне функціонування; РЕФ — рольове емоційне функціонування; ПЗ — психічне здоров'я; ЖА — життєва активність

новив 83,8, а у пацієнтів із ФП до лікування — 38,9±0,6. При порівнянні з групою здорових ці показники були значно нижчими ( $p < 0,05$ ; рис. 4).

Через 3 міс. після процедури даний показник значущо зріс порівняно з доопераційними і становив: 68,7±0,9 — для підгрупи 1а; 69,9±0,9 — для підгрупи 1б; 78,6±0,8 — для

підгрупи 2а і 81,7±0,6 — для підгрупи 2б, відмінності достовірні для всіх підгруп ( $p < 0,05$ ). Через 6 міс. він становив для підгрупи 1а — 71,1±0,8; 1б — 76,1±0,8; 2а — 81,1±1,1 і 2б — 83,2±1,0, достовірно для всіх підгруп ( $p < 0,05$ ).

Фактично після усунення ФП показник фізичного функціонування наблизився до нор-

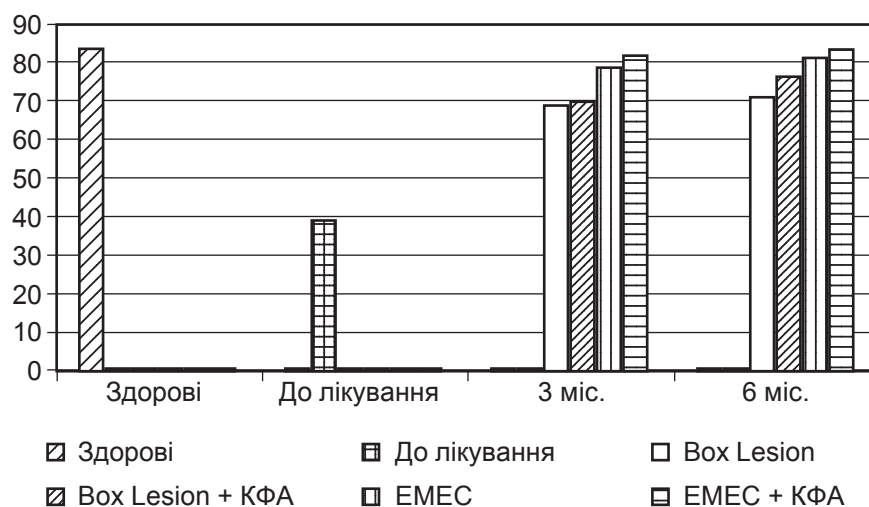


Рис. 4. Критерій фізичного функціонування (SF-36)

мальних значень, через 6 міс. у разі застосування методу ЕМЕС і ЕМЕС + КФА при порівнянні з групою здорових різниця була статистично не достовірною ( $p > 0,05$ ).

*Критерій рольового функціонування, зумовленого фізичним станом.* Показник рольового функціонування дорівнював 80,9 у здорових людей. У пацієнтів до абляції порівняно з групою здорових людей цей показник був низьким і становив  $39,9 \pm 0,2$  ( $p < 0,05$ ; рис. 5).

Через 3 міс. після процедури даний показник значущо зріс порівняно з доопераційним і дорівнював:  $57,8 \pm 0,8$  — для підгрупи 1а;  $61,9 \pm 1,1$  — для підгрупи 1б;  $69,6 \pm 1,0$  — для підгрупи 2а і  $71,7 \pm 1,2$  — для підгрупи 2б, достовірно для усіх підгруп ( $p < 0,05$ ). Через 6 міс. він становив для підгрупи 1а —  $59,3 \pm 0,9$ ; 1б —  $63,1 \pm 1,2$ ; 2а —  $72,8 \pm 1,1$  і 2б —  $74,6 \pm 1,1$ , достовірно для всіх підгруп ( $p < 0,05$ ).

Після усунення ФП показник рольового фізичного функціонування наблизився до показників здорових осіб, однак нормальних значень досягнуто не було ( $p < 0,05$ ).

*Критерій інтенсивності болю* у здорових людей становив 75,2, а у пацієнтів із ФП до оперативного втручання —  $65,1 \pm 0,9$  (рис. 6).

Через 3 міс. після процедури даний показник достовірно не відрізнявся порівняно з доопераційними значеннями і дорівнював:  $66,8 \pm 1,1$  — для підгрупи 1а;  $68,3 \pm 0,9$  — для підгрупи 1б;  $67,6 \pm 0,8$  — для підгрупи 2а і  $68,8 \pm 1,0$  — для підгрупи 2б, достовірно не для всіх підгруп ( $p > 0,05$ ). Через 6 міс. він становив для підгрупи 1а —  $69,0 \pm 1,1$ ; 1б —  $70,1 \pm 1,0$ ; 2а —  $71,2 \pm 1,1$  і 2б —  $71,9 \pm 1,0$ , достовірно не для всіх підгруп ( $p < 0,05$ ).

*Критерій загального стану здоров'я* — це оцінка пацієнтом власного стану здоров'я на даний період часу та перспективи подальшого лікуван-

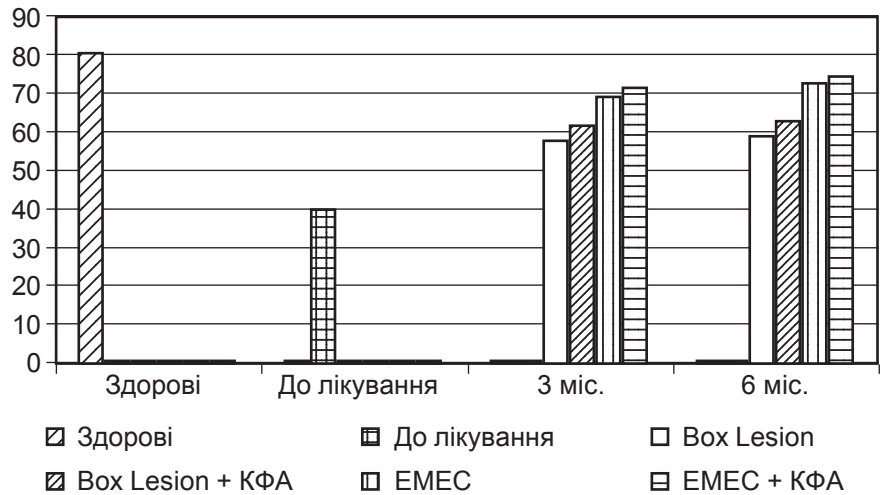


Рис. 5. Критерій рольового фізичного функціонування (SF-36)

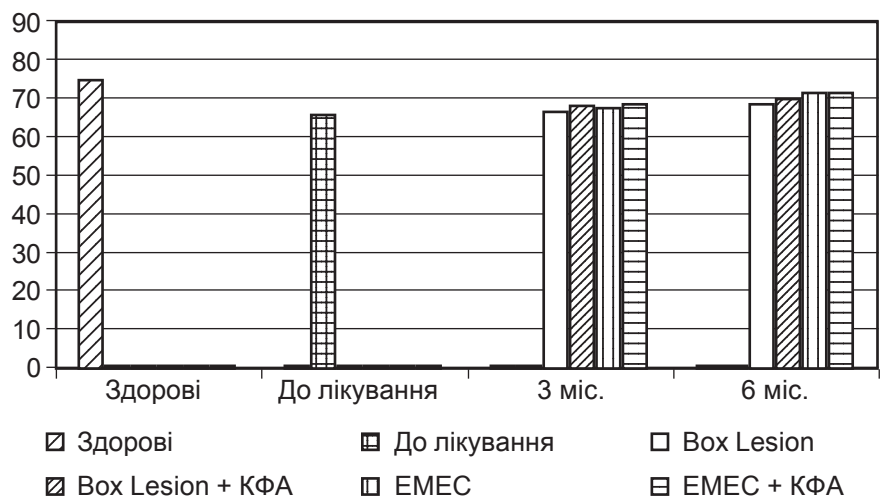


Рис. 6. Критерій інтенсивності болю (SF-36)

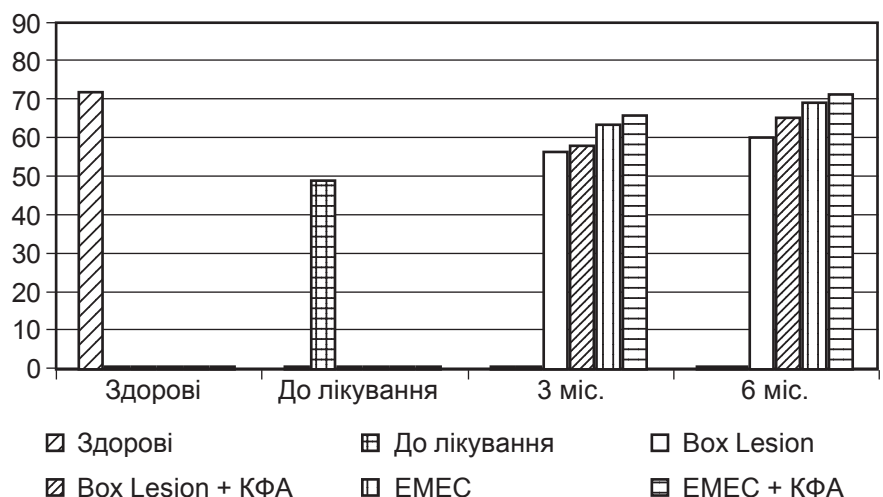


Рис. 7. Критерій загального стану здоров'я

ня. Так, у здорових людей критерій загального стану здоров'я становив 72,1, а у пацієнтів із ФП до оперативного втручання —  $48,7 \pm 1,1$ . Порівнюючи з групою здорових людей, мож-

на стверджувати про значне зниження даного критерію оцінки ( $p < 0,05$ ; рис. 7).

Через 3 міс. після процедури даний показник становив:  $56,1 \pm 0,9$  — для підгрупи 1а;



58,0±0,6 — для підгрупи 1б; 63,6±0,8 — для підгрупи 2а і 65,8±1,1 — для підгрупи 2б, достовірно для всіх підгруп (p<0,05). Через 6 міс. він дорівнював для підгрупи 1а — 60,0±1,1; 1б — 65,1±1,0; 2а — 69,2±1,1 і 2б — 71,4±0,9, достовірно для всіх підгруп (p<0,05).

*Критерій життєвої активності* у здорових людей становив 60,9. У пацієнтів до лікування даний показник при порівнянні з групою здорових людей був значно знижений і дорівнював 32,1±0,7 (p>0,05; рис. 8).

Через 3 міс. після процедури даний показник становив: 40,1±0,9 — для підгрупи 1а; 43,1±0,6 — для підгрупи 1б; 48,6±0,7 — для підгрупи 2а і 50,2±1,3 — для підгрупи 2б, достовірно для всіх підгруп (p<0,05). Через 6 міс. він дорівнював для підгрупи 1а — 46,0±1,1; 1б — 51,3±1,4; 2а — 55,2±0,9 і 2б — 57,4±0,9, достовірно для всіх підгруп (p<0,05).

*Критерій соціального функціонування* у здорових людей становив 82,9, а у пацієнтів із ФП до РЧА — 69,1±1,2 (p>0,05; рис. 9). Через 3 міс. після процедури даний показник достовірно не відрізнявся порівняно з доопераційними значеннями і становив: 68,5±0,8 — для підгрупи 1а; 69,4±0,9 — для підгрупи 1б; 70,6±0,7 — для підгрупи 2а і 71,6±1,2 — для підгрупи 2б, достовірно не для всіх підгруп (p>0,05). Втім через 6 міс. він був порівняний з нормальними значеннями і дорівнював для підгрупи 1а — 72,0±1,1; 1б — 74,8±1,0; 2а — 76,2±1,1 і 2б — 79,9±1,0, достовірно для всіх підгруп (p<0,05).

*Критерій рольового функціонування* у здорових людей сягав 80,9, а у пацієнтів із ФП до РЧА — 52,3±1,2 (p>0,05; рис. 10).

Через 3 міс. після процедури даний показник достовірно не відрізнявся порівняно з доопераційними значеннями і становив: 58,9±1,1 — для підгрупи 1а, 60,8±0,9 — для підгрупи 1б; 63,6±1,3 — для під-

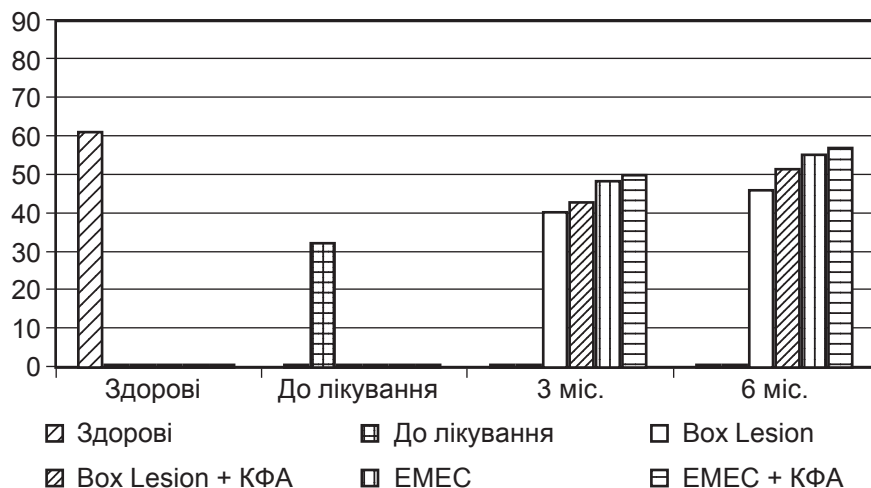


Рис. 8. Критерій життєвої активності

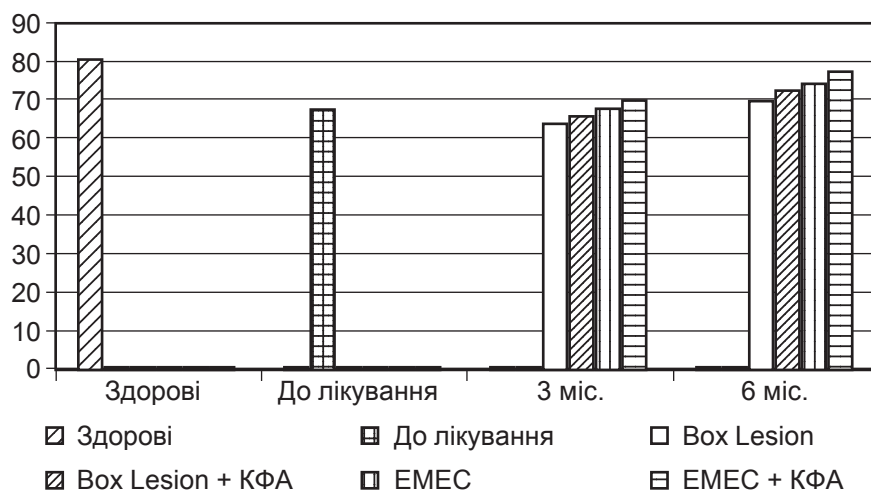


Рис. 9. Критерій соціального функціонування

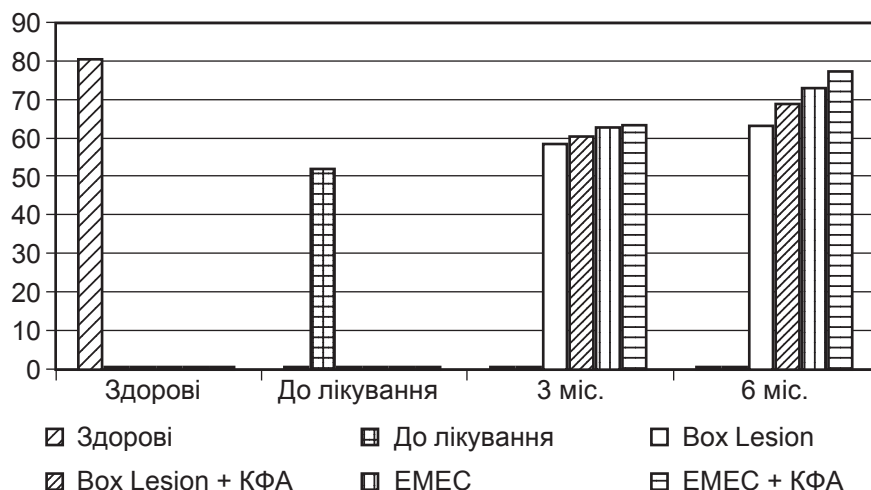


Рис. 10. Критерій рольового функціонування

групи 2а і 63,9±1,2 — для підгрупи 2б, достовірно для всіх підгруп (p<0,05). Втім через 6 міс. він був порівняний з нормальними значеннями і дорівнював для підгрупи 1а — 63,7±1,1; 1б — 69,4±

±1,1; 2а — 73,2±1,4 і 2б — 77,9±1,2, достовірно для всіх підгруп (p<0,05).

*Критерій психічного здоров'я* у здорових людей сягав 75,0, а у пацієнтів із ФП до РЧА — 52,3±1,3 (p>0,05; рис. 11).





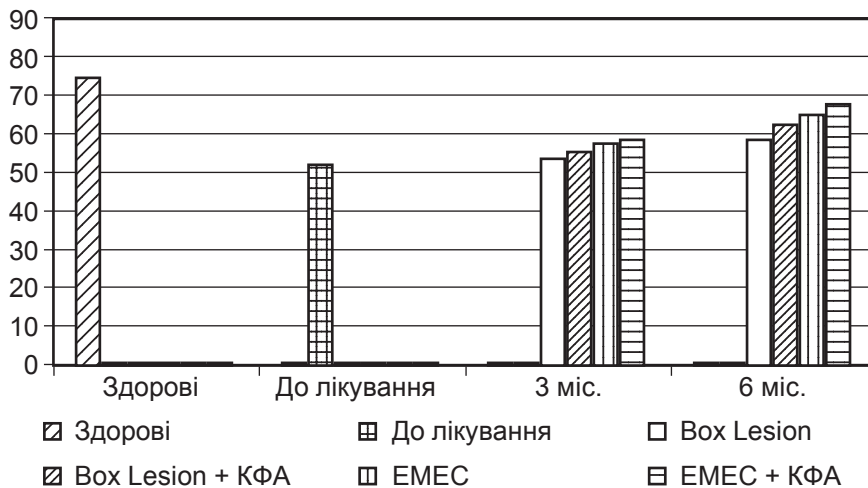


Рис. 11. Критерій психічного здоров'я

Через 3 міс. після процедури даний показник достовірно не відрізнявся порівняно з доопераційними значеннями і дорівнював:  $53,9 \pm 0,6$  — для підгрупи 1а;  $55,3 \pm 0,5$  — для підгрупи 1б;  $57,6 \pm 0,8$  — для підгрупи 2а і  $58,5 \pm 0,6$  — для підгрупи 2б, достовірно не для всіх підгруп ( $p > 0,05$ ). Втім через 6 міс. він був порівнянний з нормальними значеннями і становив для підгрупи 1а —  $58,7 \pm 1,1$ ; 1б —  $62,4 \pm 1,1$ ; 2а —  $65,2 \pm 1,2$  і 2б —  $67,9 \pm 0,7$ , достовірно для всіх підгруп ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, у результаті дослідження було виявлено, що у пацієнтів із ФП відхилення показників якості життя в негативний бік відзначалося за всіма пунктами опитувальника SF-36. Після проведення процедури РЧА ТПФП із використанням різних методик критерії якості життя у пацієнтів покращилися. Слід відзначити більш високі показники якості життя у пацієнтів, які перенесли процедуру етапної модифікації електрофізіологічного субстрату із ЕМЕС із впливом на зони КФА.

## Висновки

1. Розширення зон впливу сприяє модифікації більшої кількості патофізіологічних механізмів, що беруть участь у підтримці ФП.

2. Модифікація електрофізіологічного субстрату є найбільш адекватним методом лікування для підвищення якості життя пацієнтів із ТПФП.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Updated worldwide survey on the methods, efficacy and safety of catheter ablation for human atrial fibrillation / R. Cappatto, H. Calkins, S. Chen [et al.] // *Circ. Arr. Electroph.* — 2010. — Vol. 3. — P. 32–38.
2. Single procedure efficacy of isolating all versus arrhythmogenic pulmonary veins on long-term control of atrial fibrillation: a prospective randomized study / S. Dixit, E. P. Gerstenfeld, D. J. Callans [et al.] // *H. Rhythm.* — 2008. — Vol. 5. — P. 174–181.
3. Ablation of long standing permanent atrial fibrillation: results from a randomized study comparing three different ablation strategies / C. S. Elayi, A. Verma, L. Di Biase [et al.] // *H. Rhythm.* — 2008. — Vol. 5. — P. 1658–1664.
4. Catheter ablation of long lasting persistent atrial fibrillation: critical structures for termination / M. Haissaguerre, M. Hocini, P. Sanders [et al.] // *J. Card. El.* — 2005. — Vol. 92. — P. 1138–1147.
5. HRS/EHRA/ECAS Consensus Statement on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation: Recommendations for Personnel, Policy, Procedures and Follow-up // *H. Rhythm.* — 2007. — Vol. 4. — P. 816–861.
6. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation: a study in awake chronically instrumented goats / C. E. F. Maurits, M. D. Wijffels, J. H. J. Charles [et al.] // *Circ.* — 1995. — Vol. 92. — P. 1954–1968.
7. A new approach to catheter ablation of atrial fibrillation: mapping of the electrophysiologic substrate / K. Nademanee, J. McKenzie, E. Kossar [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2004. — Vol. 43. — P. 2044–2053.

the electrophysiologic substrate / K. Nademanee, J. McKenzie, E. Kossar [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2004. — Vol. 43. — P. 2044–2053.

8. Radiofrequency catheter ablation of chronic atrial fibrillation guided by complex electrograms / H. Oral, A. Chugh, E. Good [et al.] // *Circ.* — 2007. — Vol. 115. — P. 2606–2612.

9. Pulmonary vein isolation for paroxysmal and persistent atrial fibrillation / H. Oral, B. P. Knight, H. Tada [et al.] // *Circ.* — 2002. — Vol. 105. — P. 1077–1081.

10. Balloon catheter ablation to treat paroxysmal atrial fibrillation: What is the level of pulmonary venous isolation? / V. Y. Reddy, P. Neuzil, A. D'Avila [et al.] // *Heart rhythm.* — 2008. — Vol. 5. — P. 353–360.

11. Pulmonary vein vestibule ablation for the control of atrial fibrillation in patients with impaired left ventricular function / C. Tondo, M. Mantica, G. Russo [et al.] // *Pacing Clin. Electrophysiol.* — 2006. — Vol. 29. — P. 962–970.

## REFERENCES

1. Cappatto R., Calkins H., Chen S. et al. Updated worldwide survey on the methods, efficacy and safety of catheter ablation for human atrial fibrillation. *Circ. Arr. Electroph.* 2010; 3: 32-38.
2. Dixit S., Gerstenfeld E.P., Callans D.J. et al. Single procedure efficacy of isolating all versus arrhythmogenic pulmonary veins on long-term control of atrial fibrillation: a prospective randomized study. *H. Rhythm* 2008; 5: 174-181.
3. Elayi C.S., Verma A., Di Biase L. et al. Ablation of long standing permanent atrial fibrillation: results from a randomized study comparing three different ablation strategies. *H. Rhythm* 2008; 5: 1658-1664.
4. Haissaguerre M., Hocini M., Sanders P. et al. Catheter ablation of long lasting persistent atrial fibrillation: critical structures for termination. *J. Card. El.* 2005; 92: 1138-1147.
5. HRS/EHRA/ECAS Consensus Statement on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation: Recommendations for Personnel, Policy, Procedures and Follow-up. *H. Rhythm* 2007; 4: 816-861.
6. Maurits C.E.F., Wijffels M.D., Charles J.H.J. et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation: a study in awake chronically instrumented goats. *Circ.* 1995; 92: 1954-1968.
7. Nademanee K., McKenzie J., Kossar E. et al. A new approach to catheter ablation of atrial fibrillation: mapping of the electrophysiologic substrate. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004; 43: 2044-2053.



8. Oral H., Chugh A., Good E. et al. Radiofrequency catheter ablation of chronic atrial fibrillation guided by complex electrograms. *Circ.* 2007; 115: 2606-2612.

9. Oral H., Knight B.P., Tada H. et al. Pulmonary vein isolation for paro-

xysmal and persistent atrial fibrillation. *Circ.* 2002; 105: 1077-1081.

10. Reddy V.Y., Neuzil P., d'Avila A. et al. Balloon catheter ablation to treat paroxysmal atrial fibrillation: What is the level of pulmonary venous isolation? *Heart rhythm* 2008; 5: 353-360.

11. Tondo C., Mantica M., Russo G. et al. Pulmonary vein vestibule ablation for the control of atrial fibrillation in patients with impaired left ventricular function. *Pacing Clin. Electrophysiol* 2006; 29: 962-970.

Надійшла 28.04.2014

УДК 616.65-002.2-06:616.65-007.61]-02:616.992.282

Ф. І. Костєв, О. М. Зачеславський, О. В. Руденко,  
Р. Б. Чистяков, Л. І. Красиліук

## ВПЛИВ ГРИБІВ РОДУ *CANDIDA* НА ПЕРЕБІГ ХРОНІЧНОГО ПРОСТАТИТУ У ХВОРИХ НА ДОБРОЯКІСНУ ГІПЕРПЛАЗІЮ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.65-002.2-06:616.65-007.61]-02:616.992.282

Ф. И. Костев, А. Н. Зачеславский, А. В. Руденко, Р. Б. Чистяков, Л. И. Красиліук  
ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПРОСТАТИТА У БОЛЬ-  
НЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Верификация кандидозного поражения предстательной железы значительно затруднена вследствие различных факторов.

В работе приведены данные морфологических исследований ткани простаты, по результатам которых сделаны выводы относительно влияния грибов рода *Candida* на особенности течения хронического простатита и доброкачественной гиперплазии предстательной железы.

**Ключевые слова:** грибы рода *Candida*, хронический простатит, доброкачественная гиперплазия предстательной железы, морфологические исследования.

UDC 616.65-002.2-06:616.65-007.61]-02:616.992.282

F. I. Kostyev, O. M. Zacheslavskiy, O. V. Rudenko, R. B. Chystyakov, L. I. Krasyllyuk  
INFLUENCE OF *CANDIDA* FUNGI ON CHRONIC PROSTATITIS COURSE IN PATIENTS  
SUFFERING FROM BENIGN PROSTATE HYPERPLASIA

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

**Introduction.** About 18% healthy adult men are carriers of yeast fungi, but the *Candida* infection of prostate is rarely detected, which is associated with the fungus static action of prostate's secretion and considerable difficulties in diagnosis of candidosis.

**The objective** of the work is to define *Candida* fungi influence on the chronic prostatitis course in patients suffering from benign prostate hyperplasia (BPH).

**Methods.** The object of research were 40 patients suffering from BPH, who were verified urogenital candidosis with the usage of bacteriologic, bacterioscopic and morphologic methods of investigation.

**Results.** Morphological research of the prostate tissue revealed visceral candidosis in 35.0% patients operated on BPH. The morphological picture of prostate tissue in BPH patients, associated with *Candida* fungi, had a number of features both on the side of fungi and prostate tissue.

The distinctive feature of prostate tissue visceral candidosis is that almost all the elements of the causative agent are localized in the muscular layer, which explains the absence of clinical signs of this pathology. The fall of activity of fungi protective mechanisms against a background of hypoxia at the area of ischemic tissue, due to the inflammatory edema and presence of hyperplasia nodules, exclude a possibility of acute condition.

Taking into account the new necrobiosis foci detecting, one should consider that they can transit into fibrosis in future with sclerosing and calcification, which results in formation of the focus of persistent *Candida*-carrying, which causes visceral candidosis relapse and BPH signs.

**Conclusion.** Chronic prostatitis associated with *Candida* fungi in BPH patients has no special clinical signs and can be hardly detected with non-invasive methods. Presence of *Candida* fungi in prostate tissue of BPH patients accelerates the sclerosing processes, which makes an effects on chronic prostatitis course and benign hyperplasia.

**Key words:** *Candida* fungi, chronic prostatitis, benign prostate hypertrophy.



Близько 18 % здорових дорослих чоловіків є носіями дріжджоподібних грибів [1], тому етіологічна роль грибів роду *Candida* у розвитку патології сечостатевої системи суперечлива та вивчається вже давно. Уперше штами *Candida albicans* були ідентифіковані й описані G. Scherber при малосимптомному хронічному простатиті, а також при гострому паренхіматозному простатиті й абсцесі передміхурової залози [2]. Однак кандидна інфекція передміхурової залози виявляється досить рідко, що пов'язано, на думку Н. G. Shiefer, з фунгістатичною дією секрету залози [3]. З точки зору Н. G. Shiefer (1994), дані про кандидні ураження сечостатевої системи чоловіків у періодичній літературі з'являються рідко, у тому числі через відсутність вираженої клінічної картини (гіпертермії, дизурії та вираженого больового синдрому) навіть при гострому кандидному простатиті [3]. Тієї ж думки дотримуються Н. А. Лопаткин и соавт. (1998), які відмічають, що кандидні уретрити та простатити виникають здебільшого підгостро і мають в основному торпідний перебіг [4].

На думку В. А. Молочкова (1994), запалення передміхурової залози може розвинути-ся внаслідок дисбіозу та низхідної уроінфекції. Хронічний кандидний простатит виникає при проникненні збудника у залозу внаслідок уретрогенної контамінації або з інфікованою сечею, а також гематогенним шляхом [2]. Н. А. Лопаткин и соавт. (1998) погоджуються з тим, що кандидний уретрит у чоловіків може ускладнюватися простатитом, епідидимітом і циститом, однак акцентують увагу на обов'язковій присутності у цьому випадку змішаної інфекції (гриби та патогенні мікроорганізми) [4].

Низький відсоток виявлення уrogenітального кандидозу, на думку А. В. Руденко и соавт. (2004), пов'язаний також із

складнощами у діагностиці різноманітних форм кандидозів [5], тому і сьогодні не припиняються пошуки нових діагностичних методик [6; 7].

**Мета** роботи — визначити вплив грибів роду *Candida* на перебіг хронічного простатиту у хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Об'єктом дослідження стали 40 хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози (ДГПЗ) другої стадії, яким було проведене хірургічне лікування у плановому порядку.

Здійснено бактеріоскопічне дослідження зскрібків з уретри і секрету передміхурової залози. Нативні та забарвлені за Папенгеймом мазки досліджували при збільшенні окуляра мікроскопа  $\times 90$  і об'єктива  $\times 10$ .

Бактеріологічне дослідження зскрібків з уретри і секрету передміхурової залози виконувалося згідно з Наказом МОЗ України № 535 від 22.04.1985 р. «Про уніфікацію мікробіологічних методів дослідження, що використовуються у клініко-діагностичних лабораторіях і лікувально-профілактичних закладах».

Морфологічні дослідження тканини передміхурової залози проводилися за такими методиками: забарвлення за Ван Гізоном, забарвлення за Гоморі — Грокотом та PAS-реакція.

#### **Результати дослідження та їх обговорення**

За результатами передопераційного обстеження 40 хворих на ДГПЗ ознак наявності гострого інфекційно-запального процесу органів сечостатевої системи не виявлено.

При зборі анамнезу встановлено, що 3 (7,5 %) хворим виконувалася катетеризація сечового міхура терміном менше 3 дб.

За даними загальноклінічних аналізів крові та сечі, від-

хилень від норми не виявлялося, за винятком 6 (15,0 %) хворих, у яких було визначено незначну тотальну (1 випадок) та термінальну (5 випадків) лейкоцитурію, наявність якої пояснюється підгострим перебігом хронічного простатиту.

Показник кількості лейкоцитів у секреті простати не перевищував 20 у полі зору.

За даними бактеріоскопічного та бактеріологічного досліджень зскрібків з уретри та секрету передміхурової залози, гриби роду *Candida* були визначені у 7 (17,5 %) хворих. Слід також відмітити, що в усіх випадках гриби виявлялись у поєднанні з іншими інфекціями. Серед мікроорганізмів, що входили до асоціації з грибами роду *Candida*, найчастіше траплялися: *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus haemolyticus*.

Зразки тканини простати для проведення гістохімічного дослідження поміщали у тверде середовище HistoMix, потім виготовляли зрізи завтовшки 3 мкм по лімбу мікротома, наклеювали їх на предметні скельця за методом Генеги — Ікеда, депарафінували і забарвлювали такими методами: гематоксилін-еозин, PAS-реакція, імпрегнація сріблом за методом Гоморі — Грокота.

Морфологічна картина тканини передміхурової залози у хворих на ДГПЗ, асоційованої з грибами роду *Candida*, мала низку особливостей як з боку грибів, так і з боку тканини простати, а її морфогенез характеризувався так.

Цитоплазма більшості залозистих клітин була представлена кубічним епітелієм, а в окремих місцях — призматичним. Епітелій, що досліджувався, знаходився на тонких, гладких, не потовщених базальних мембранах. Ядра епітеліальних клітин — нормохромні, розташовані центрально. В окремих залозах відзначалася багаторядність епітелію. Цито-





плазма значної кількості залоз — світла, рожева, гомогенна.

У деяких залозах спостерігалися ознаки апокринової секреції, в отворах наявні гомогенні, аморфні маси секрету. В окремих, досить нечисленних місцях, у просвіті кінцевих відділів залоз помітні несправжні мікрососочки. Самі залози, їх кінцеві відділи розділені вузькими або широкими прошарками стромы. Стромальний компонент представлено, в основному, сформованою сполучною тканиною, яка містить різнокаліберні колагенові волокна, з рожевою цитоплазмою. Спостерігалася помірна інфільтрація гістіоцитарно-фібробластичними елементами. Строма є дифузно розростлою, без різкої деформації органа. При цьому, за результатами гістохімічного дослідження на кислі мукополісахариди з альціановим синім, — реакція на фоновому рівні, можна стверджувати про відсутність новоутворення сполучної тканини внаслідок колагенізації попередніх аргірофільних структур. Таким чином, наявне реактивне розростання сполучної тканини на фоні дистрофії/атрофії паренхіми.

У стромі присутні міоепітеліальні елементи, представлені тонкими, витягнутими гладкими міоцитами з нормохромними ядрами і рожевою цитоплазмою. Вони розташовані паралельно базальній мембрані, повторюють її контур, а також у вигляді окремих тяжів, що вільно лежать у стромі. У цьому разі вони представлені клітинами нормальної товщини або злегка потовщеними, з великими нормохромними ядрами.

При мікроскопічному вивченні представлених мікропрепаратів із тканини передміхурової залози 40 хворих на ДГПЗ у препаратах тканини передміхурової залози 14 (35,0 %) пацієнтів були виявлені сторонні для тканини включення — округлі, іноді овальні клітини

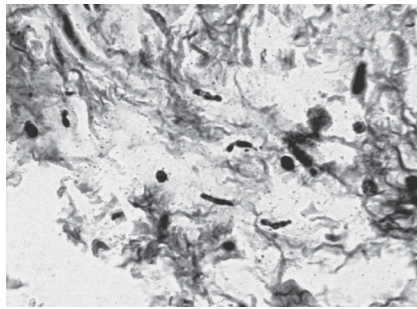


Рис. 1. Гриби у тканині передміхурової залози хворого Б., 72 роки. Сріблення за Гоморі — Грокотом. Збільшення  $\times 200$

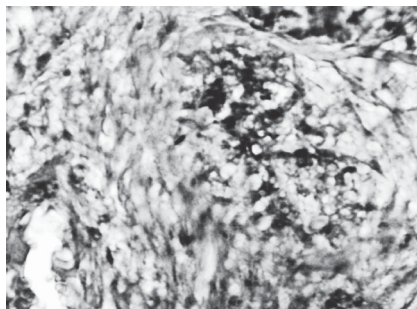


Рис. 3. Широке розростання псевдоміцелію *Candida*, що нагадує друзи. Відсутність запальної реакції. Хворий Ч., 78 років. Забарвлення за Боголеповим. Збільшення  $\times 200$

діаметром від 2 до 5 мкм, іноді грушоподібної форми (рис. 1).

За формою гриби вирізняються різноманітними морфологічними варіантами (рис. 2).

У препаратах помітні тонкі, короткі, іноді вигнуті нитки, які складаються із подовжених клітин, що стикаються між собою, без загальної оболонки. У більшості випадків наявне їх обривання. В окремих випадках спостерігаються нитки з потовщенням на кінцях, у вигляді витягнутого заокруглення.

Виявлялися і більш виражені морфологічні зміни, характерні для кандидного ураження передміхурової залози (рис. 3).

Морфологічними дослідженнями виявлено розростання псевдоміцелію гриба із формуванням друзоподібних утворень у сполучній тканині органа. При цьому практично не спостерігалася вираженої за-

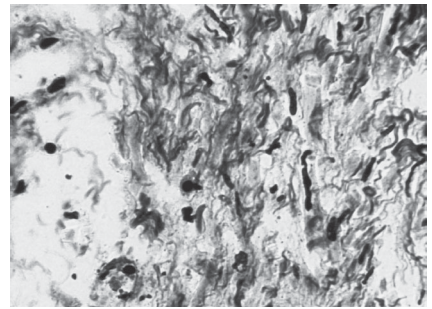


Рис. 2. Форми грибів, виявлених у тканині передміхурової залози хворого Б., 72 роки. Сріблення за Гоморі — Грокотом. Збільшення  $\times 200$

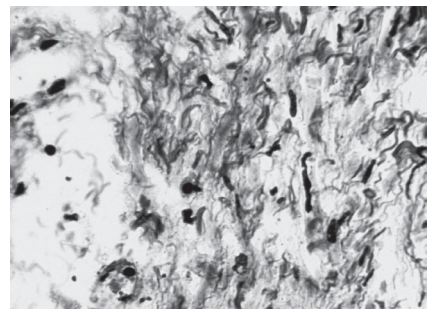


Рис. 4. Осередок кандидного росту у тканині передміхурової залози хворого на доброякісну гіперплазію передміхурової залози. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення  $\times 200$

пальної реакції навколо друз гриба. Слід зазначити, що в цьому випадку не відмічались і ознаки некробіотичних змін в органі. Водночас сполучна тканина набрякла з додаванням макрофагально-гістіоцитарних елементів. Трапляються поодинокі лімфоїдні елементи, в окремих випадках вони утворюють невелику муфту на периферії осередку кандидного росту.

Порівнюючи препарати передміхурової залози хворих на доброякісну гіперплазію, забарвлені гематоксилін-еозином і за методом Гоморі — Грокота, слід відмітити, що практично всі вищенаведені утворення з'являються в осередках некротичних змін з наявністю навколо осередків і в тканині ознак незначної запальної реакції (рис. 4, 5).

В осередках некрозу відмічається велике нагромаджен-





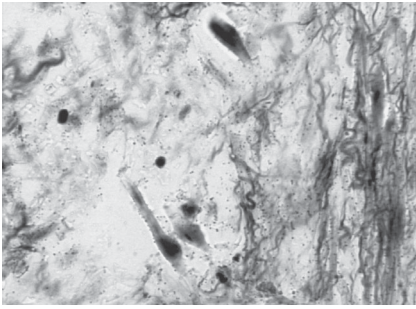


Рис. 5. Некротичні зміни у тканині передміхурової залози хворого на доброякісну гіперплазію передміхурової залози. Забарвлення гематоксилін-еозином. Збільшення  $\times 200$

ня лімфоцитів і поліморфно-ядерних лейкоцитів, що розпадаються. Гігантські клітини Пірогова — Ланганса і клітини сторонніх тіл в описаних препаратах поодинокі (рис. 6, 7).

Крім того, навколо некротизованих осередків спостерігаються ознаки продуктивного розростання сполучної тканини з переходом у склероз.

За морфологічними, морфометричними та гістохімічними ознаками вищеописана картина найбільше відповідає наведеним у літературі повідомленням про ураження тканин, викликаних збудником — грибами роду *Candida*.

На підставі проведеного вивчення тканини передміхурової залози і виявлених збудників вісцерального мікозу, з урахуванням морфологічних даних, слід відмітити, що особливістю кандидозності у тканині простати є відсутність вираженої запальної реакції в осередках ураження грибами

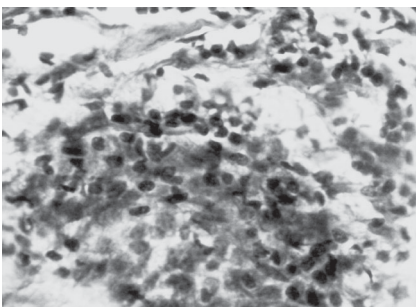


Рис. 6. Гігантська клітина Пірогова — Ланганса. Забарвлення за Боголеповим. Збільшення  $\times 200$

роду *Candida*, оскільки вони проявляють імунодепресивні властивості.

Відмінністю вісцерального кандидозу тканини простати є те, що практично всі виявлені елементи збудника локалізуються у м'язовому прошарку, що пояснює відсутність клінічних проявів даної патології. Зниження активності захисних механізмів грибів на тлі гіпоксії у ділянці тканини з ішемією, за рахунок набряку запального характеру та наявності вузлів гіперплазії, виключає можливість загострення процесу. Відсутність збудників у аденоматозно зміненій тканині простати дозволяє припустити, що виявлений збудник не є відповідальним за залозисту проліферацію тканини простати.

З урахуванням виявлених свіжих осередків некробіозу слід вважати, що з часом можливий їх перехід у фіброз із подальшим склерозуванням і кальцифікацією. Беручи до уваги відому тропність грибів роду *Candida* до нагромадження іонів кальцію, процес кальцифікації склерозованого осередку помітно прискорюється. У цьому разі відсутність елімінації збудника призводить до утворення осередку персистуючого кандидозності, що за наявності екзогенних імуносупресивних факторів може спричинити рецидивування захворювання на вісцеральний кандидоз і підтримання хронічного перебігу простатиту, що є підставою

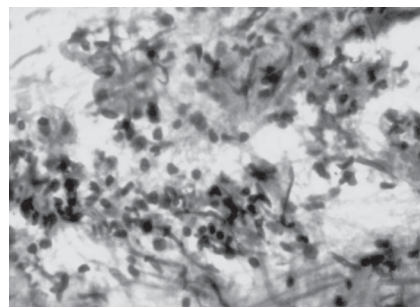


Рис. 7. Осередки інфільтрації у досліджуваній тканині. Забарвлення за Боголеповим. Збільшення  $\times 200$

для призначення антимікотичної терапії цьому контингенту хворих.

## Висновки

1. Морфологічними дослідженнями тканини передміхурової залози хворих, оперованих із приводу доброякісної гіперплазії, у 35,0 % випадків установлено вісцеральний кандидоз, що вказує на необхідність проведення терапії антимікотиками у хворих на ДГПЗ при неадекватному лікуванні антибактеріальними препаратами інфекційно-запального процесу.

2. Хронічний простатит, асоційований із грибами роду *Candida*, у хворих на ДГПЗ не має характерних клінічних ознак та є складним для верифікації малоінвазивними методами. Характер локалізації збудника, наявність у грибів роду *Candida* імунодепресивних властивостей пояснюють відсутність клінічних проявів даної патології.

3. Наявність грибів роду *Candida* у тканині простати хворих на ДГПЗ прискорює процеси склерозування, що впливає на перебіг хронічного простатиту та доброякісної гіперплазії передміхурової залози.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Третьяков М. С. Досвід використання Флузамеду в лікуванні кандидозного баланіту та баланопоститу / М. С. Третьяков, В. П. Ковальчук, С. А. Третьякова // Здоровье мужчины. — 2012. — № 1. — С. 23–24.
2. Молочков В. А. Хронический уретрогенный простатит / В. А. Молочков, И. И. Ильин. — М. : Медицина, 1998. — 303 с.
3. Shiefer H. G. Prostatic infection by unconventional, fastidious pathogens / H. G. Shiefer, E. W. Weidner, P. O. Madsen // Prostatitis Etiopathology, Diagnosis and Therapy. — Berlin : Springer Verlag, 1994. — P. 229–244.
4. Руководство по урологии : в 3-х т. / под ред. Н. А. Лопаткина. — М. : Медицина, 1998. — 1720 с.
5. Серологические методы в диагностике урогенитального кандидоза / А. В. Руденко, В. Т. Кругликов, О. В. Ромащенко [и др.] // Успехи медицинской микологии. Т. 4 / под ред. Ю. В. Сергеева. — М. : Нац. академия микологии, 2004. — С. 266–268.



6. Prostatic abscess due to *Candida tropicalis* / C. Bastide, A. Carcenac, F. Arrova, D. Rossi // *Prostate Cancer Prostatic Dis.* – 2005. – Vol. 8, N 3. – P. 296–297.

7. Mikulska M. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis. University of Genoa, Division of Infectious Diseases, Genoa, Italy / M. Mikulska // *Mycoses.* – 2012. – Vol. 55, Suppl. 4. – P. 5.

#### REFERENCES

1. Tretyakov M.S., Kovalchuk V.P., Tretyakova S.A. Experience of Flu-zamed use in medical treatment of can-

didous balanitis and balanopostitis. *Zdorovye muzhchiny* 2012; 1: 23-24.

2. Molochkov V.A., Ilyin I.I. Chronic urethrogenic prostatitis. Moscow, Meditsina, 1998, 303 p.

3. Shiefer H.G., Weidner E.W., Madsen P.O. Prostatic infection by unconventional, fastidious pathogens. *Prostatitis Etiopathology, Diagnosis and Therapy.* Springer Verlag-Berlin. 1994, p. 229-244.

4. Lopatkin N.A., ed. *Rukovodstvo po urologii v 3kh t.* Moscow, Meditsina, 1998, 1720 p.

5. Rudenko A.V., Kruglikov V.T., Romashchenko O.V., Prilutskiy I.S.,

Kuzmenko I.Ye., Reznichenko N.A. Serologic methods in diagnosis of urogenital candidosis. *Uspekhi meditsinskoy mikologii.* Vol. 4. pod red. Yu.V. Sergeev. Moscow, Natsionalnaya akademiya mikologii, 2004, p. 266-268.

6. Bastide C., Carcenac A., Arrova F., Rossi D. Prostatic abscess due to *Candida tropicalis*. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2005; 8 (3): 296-297.

7. Mikulska M. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis. University of Genoa, Division of Infectious Diseases, Genoa, Italy. *Mycoses* 2012; 55, suppl. 4: 5.

Надійшла 5.02.2014

УДК 616.248-053.2-07

У. І. Марусик, С. І. Погребенник\*

## ПОКАЗНИКИ ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ШКОЛЯРІВ, ХВОРИХ НА ТЯЖКУ БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна,

\* Міська дитяча поліклініка, Чернівці, Україна

УДК 616.248-053.2-07

У. І. Марусик, С. І. Погребенник\*

### ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ІМУННОЇ СИСТЕМИ ШКОЛЬНИКІВ, БОЛЬНИХ ТЯЖЕЛОЮ БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна,

\* Городська дитяча поліклініка, Чернівці, Україна

Обстежено 30 школярів з тяжелою бронхіальною астмою і 30 дітей со среднетяжелым ее течением. У пацієнтів з тяжелою астмою виявлена чітка тенденція к підвищенню відносного вмісту ІЛ-4 в периферическій крові, що косвенно указує на вираженість запального процесу в бронхах. Практически у кожного второго ребенка, страждующего тяжелой астмой, отмечалось повышение концентрации IgA (более 1,8 мг/мл), при этом соотношение шансов составило 8,6 (95 % ДИ 3,9–18,8). Определены клиническо-епидемиологический риск и диагностическая ценность отдельных иммунологических показателей для верификации фенотипа тяжелой бронхіальної астми.

**Ключевые слова:** бронхіальна астма, діти, інтерлейкіни, імуноглобуліни, астма-фенотипи.

UDC 616.248-053.2-07

U. I. Marusyk, S. I. Pogrebennyk\*

### INDICATORS OF HUMORAL IMMUNE SYSTEM OF SCHOOL-AGE CHILDREN WITH SEVERE BRONCHIAL ASTHMA

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine,

\* Municipal Children's Hospital, Chernivtsi, Ukraine

**Introduction.** Although long-term studies of allergic diseases, which are held by the international community of scientists, bronchial asthma is one of the most pressing problems of modern pediatrics.

**The arm of the research:** to establish parameters of humoral immune system in children of school age for verification severe phenotype of asthma and improve outcomes.

**Methods.** The study involved 60 school-age children with asthma in remission. Over the course of the disease the patients were divided into two clinical groups. The first (I) clinical group consisted of 30 patients who had been registered severe asthma. The second (II) clinical group formed 30 students with moderately severe asthma.

**Results.** The average concentration of IL-4 in the serum of children first clinical group was (10.6±2.1) mg/ml, and in those of the second clinical group — (7.2±2.5) mg/ml (p>0.05). Concentration of IgM in serum of more than 1 mg/ml was found in 57.7% of patients with severe asthma and in 39.1% of patients in the other clinical groups (p>0.05). The average content of IgA serum of



patients with severe asthma reached ( $1.77 \pm 0.15$ ) mg/ml, and the children of the second clinical group — ( $1.27 \pm 0.2$ ) mg/ml ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** The relative levels of IgG, greater than 12.0 mg/ml allows verified severe asthma with a sensitivity of 57.7% and a specificity of 81.8%, with odds ratios — 6.1, and personalize treatment policy in these patients. Increased IgA concentration more than 1.8 mg/ml associated with the risk of having severe asthma phenotypes: the absolute risk — 0.5, RR — 2.2 (95% CI 1.2–4.3) with odds ratios — 8.6.

**Key words:** bronchial asthma, children, interleukins, immunoglobulins, asthma-phenotypes.

## Вступ

Попри багаторічні дослідження алергічних захворювань, які проводяться міжнародною спільнотою науковців, бронхіальна астма (БА) залишається однією із найактуальніших проблем сучасної педіатрії.

Згідно з даними епідеміологічних досліджень, на алергічні захворювання страждає до 25 % дітей і підлітків, тобто кожна четверта, а на БА — кожна десята дитина [1]. Відповідно до даних ВООЗ, поширеність БА серед дитячого населення становить 10 %. У різних регіонах України даний показник коливається від 5 до 9 % дитячої популяції [2]. Особливо гостро наразі стоїть питання про підвищення ефективності терапії даного захворювання та досягнення такого рівня контролю, який дозволяв би дитині вести активне соціальне життя.

Згідно з Глобальною стратегією лікування та профілактики БА, адекватна терапія дозволяє контролювати клінічні прояви хвороби. Однак у певної частини хворих (за даними різних авторів, у 40–60 %) [2] розвивається астма, що важко піддається лікуванню. Неefективність базисної терапії БА [3; 4] зумовлена, ймовірно, наявністю різних фенотипів даного захворювання [5], зокрема фенотипу «тяжкої астми». Даний фенотип характеризується генетично детермінованою нечутливістю організму до глюкокортикостерої-

дів [6], які є основою протизапальної терапії.

Надмірно агресивна терапія глюкокортикостероїдами, за неefективності звичайних доз, у дітей із зазначеним вище фенотипом БА зумовлює розвиток низки небажаних і небезпечних ускладнень [5]. Досить часто верифікація фенотипу тяжкої астми, особливо в періоді ремісії, викликає певні труднощі у лікаря. Оскільки клінічна картина різних фенотипів БА практично не відрізняється, необхідно знаходити об'єктивні їх маркери для персоналізації терапії астми та, відповідно, підвищення її ефективності. На нашу думку, такими маркерами можуть бути показники клітинної ланки імунної системи дітей, що відображають патогенетичні механізми реалізації даного захворювання.

**Мета** дослідження — оцінити окремі показники гуморальної ланки імунної системи у дітей шкільного віку для верифікації тяжкого фенотипу БА та покращання результатів лікування.

## Матеріали та методи дослідження

У пульмонологічному відділенні Обласної дитячої клінічної лікарні № 1 Чернівців у періоді ремісії комплексно обстежено 60 дітей шкільного віку, хворих на БА. За перебігом захворювання дітей розподілили на дві клінічні групи. До першої клінічної групи увійшли 30 пацієнтів, у яких реєструвалася тяжка БА. Другу клінічну групу сформували 30 школярів, у

яких визначалася БА середньої тяжкості. За основними клінічними ознаками сформовані групи були порівнюваними.

Першу клінічну групу утворили 21 (70,0 %) хлопчик і 9 (30,0 %) дівчаток. До другої групи увійшло 19 (63,3 %) хлопчиків ( $p_{\phi} > 0,05$ ) і 11 (36,7 %) дівчаток ( $p_{\phi} > 0,05$ ). Середній вік хворих першої групи становив ( $12,2 \pm 0,5$ ) року, а школярів другої групи — ( $11,1 \pm 0,6$ ) року ( $p > 0,05$ ). До складу першої клінічної групи увійшли 33,3 % міських жителів і 66,7 % пацієнтів із сільської місцевості. Другу групу сформували 12 (40,0 %) мешканців міст і міських поселень і 18 (60,0 %) хворих ( $p_{\phi} > 0,05$ ), які проживають у селах.

Таким чином, за статтю, віком і місцем проживання клінічні групи порівняння вірогідно не відрізнялися.

Усім дітям проводили імунологічне дослідження крові II–III рівнів. Вміст у сироватці крові імуноглобулінів класів А, G, М визначали методом радіальної імунодифузії за G. Mancini et al., а загального IgE, ІЛ-4, ІЛ-5 та ІЛ-8 у сироватці крові — методом імуноферментного аналізу.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики, використовуючи статистичну програму StatSoft Statistica 5.0, та з позиції клінічної епідеміології з визначенням чутливості та специфічності тестів і додатного та від'ємного відношення





правдоподібності, а також з урахуванням абсолютного, відносного ризиків і співвідношення шансів із зазначенням 95 % довірчого інтервалу (95 % ДІ).

### Результати дослідження та їх обговорення

Порівняльний аналіз показників гуморальної ланки імунітету у дітей із фенотипом тяжкої БА та середньотяжким перебігом захворювання показав, що вміст ІЛ-8 у сироватці крові у дітей обох клінічних груп суттєво не відрізнявся, однак практично в чотири рази перевищував норму за даними виробника (2 пг/мл). Так, середній вміст ІЛ-8 у сироватці крові осіб першої групи становив  $(8,1 \pm 0,9)$  пг/мл, а у пацієнтів, у яких реєструвався середньотяжкий перебіг БА, —  $(8,5 \pm 1,4)$  пг/мл ( $p > 0,05$ ).

Важливими індикаторами хронічного запалення при БА є ІЛ-4 та ІЛ-5, біологічний ефект яких пов'язаний із регуляцією синтезу ІgE та підтримкою еозинофільного запалення в респіраторному тракті [7]. Порівняльний аналіз даних цитокінів у школярів обох клінічних груп не виявив вірогідних відмінностей, проте відмічено чітку тенденцію до підвищення концентрації у пацієнтів із тяжкою БА. Так, середня концентрація ІЛ-4 у сироватці крові дітей першої клінічної групи становила  $(10,6 \pm 2,1)$  пг/мл, а в осіб другої клінічної групи —  $(7,2 \pm 2,5)$  пг/мл ( $p > 0,05$ ). Середній вміст ІЛ-5 у клінічних групах сягав  $(35,8 \pm 15,7)$  і  $(8,6 \pm 4,3)$  пг/мл ( $p > 0,05$ ) відповідно. Попри відсутність вірогідних відмінностей концентрації даних цитокінів у сироватці крові дітей із різними фенотипами БА, практично у кожного третього пацієнта першої клінічної групи (36,4 %) реєструвався значно

підвищений вміст ІЛ-4 (більше 10,0 пг/мл), тимчасом як у обстежених другої групи — лише у 15,5 % випадків ( $p_{\phi} < 0,05$ ). Тенденція до підвищеного вмісту ІЛ-4 та ІЛ-5 у сироватці крові дітей, хворих на тяжку БА, зумовлена, ймовірно, вираженим запаленням дихальних шляхів [8]. При цьому специфічність визначення зазначеної вище концентрації ІЛ-4 у периферичній крові школярів із тяжкою БА становила 84,6 % (95 % ДІ 75,9–91,1), а чутливість — лише 36,4 % (95 % ДІ 26,9–46,6), при співвідношенні шансів 3,1 (95 % ДІ 1,5–6,2).

Оскільки розвиток БА повсякчас асоціює із вродженою, генетично-детермінованою гіперпродукцією ІgE [9], нами досліджено його вміст у сироватці крові обстежених дітей. Установлено, що вміст загального ІgE у сироватці крові практично всіх обстежених нами хворих (95,1 %) перевищував популяційну норму здорових дітей (120 МО/мл), однак у пацієнтів першої клінічної групи він був дещо вищим. Так, вміст ІgE у школярів із тяжкою астмою становив 813,5 МО/мл, а в осіб другої клінічної групи — 685,3 МО/мл ( $p > 0,05$ ). Водночас концентрація ІgE, що перевищувала 883,0 МО/мл, реєструвалась у 43,5 % дітей першої клінічної групи та лише у 33,3 % випадків — у другій групі порівняння ( $p < 0,05$ ).

Згідно з даними літератури [10], Т-хелпери 2-го порядку активують перетворення ІgM та ІgG в ІgE, саме тому нами був проведений аналіз концентрації даних імуноглобулінів у сироватці крові.

Середня концентрація ІgG у сироватці крові дітей, хворих на тяжку БА, була незначно вищою, ніж у осіб другої клінічної групи. Так, даний показник у пацієнтів першої групи

становив  $(11,4 \pm 1,1)$  мг/мл, а у школярів другої групи —  $(9,9 \pm 0,8)$  мг/мл ( $p > 0,05$ ). Незважаючи на те, що у дітей обох груп не виявлено вірогідної відмінності між рівнями ІgG у сироватці крові, однак значення даного показника, що перевищували 12,0 мг/мл, реєструвались у більшості обстежених осіб (57,6 %) першої групи на противагу частки дітей (18,2 %) другої групи ( $p_{\phi} < 0,05$ ).

Підвищений до зазначеного показника вміст ІgG у периферичній крові асоціював із ризиком наявності фенотипу тяжкої БА: атрибутивний ризик — 0,4, відносний ризик — 2,2 (95 % ДІ 1,4–3,4) при співвідношенні шансів 6,1 (95 % ДІ 3,2–11,6).

Водночас у пацієнтів першої групи спостерігалася тенденція до вищого вмісту ІgM у сироватці крові порівняно з дітьми із середньотяжким перебігом БА. Так, середній вміст даного імуноглобуліну в сироватці крові пацієнтів обох клінічних груп становив  $(1,80 \pm 0,36)$  та  $(1,20 \pm 0,07)$  мг/мл відповідно ( $p > 0,05$ ). При цьому концентрація ІgM у сироватці крові понад 1,1 мг/мл виявлена у 57,7 % хворих із тяжкою БА та у 39,1 % пацієнтів другої клінічної групи ( $p_{\phi} > 0,05$ ).

У школярів першої клінічної групи відмічається вірогідно вищий вміст ІgA у сироватці крові, що, ймовірно, асоціює з вираженістю запального процесу. Так, середній вміст ІgA у сироватці крові пацієнтів із тяжкою астмою сягав  $(1,77 \pm 0,15)$  мг/мл, а у дітей другої клінічної групи —  $(1,27 \pm 0,20)$  мг/мл ( $p < 0,05$ ). Концентрація ІgA у сироватці крові вище 1,8 мг/мл визначалася у 46,2 % школярів із тяжкою БА та лише у 9,1 % осіб другої клінічної групи ( $p_{\phi} > 0,05$ ).





Показники діагностичної цінності підвищеного вмісту IgA у периферичній крові при виявленні тяжкого фенотипу БА щодо середньотяжкого перебігу захворювання були такими: чутливість — 46,2 % (95 % ДІ 36,1–56,4), специфічність — 90,9 % (95 % ДІ 83,4–95,7), додатного — 5,07 та від'ємного — 0,59 відношення правдоподібності. Підвищена до зазначеного вище показника концентрація IgA у периферичній крові асоціювала із ризиком наявності фенотипу тяжкої БА: атрибутивний ризик — 0,5, відносний ризик — 2,2 (95 % ДІ 1,2–4,3) при співвідношенні шансів 8,6 (95 % ДІ 3,9–18,8).

Таким чином, у більшості пацієнтів із тяжкою БА відмічається підвищена концентрація IgE, IgG, IgM, IgA, ІЛ-4 та ІЛ-5 у сироватці крові, що опосередковано свідчить про вираженість запального процесу у даній когорті осіб.

## Висновки

Враховуючи низьку чутливість показників гуморальної ланки імунної системи у дітей, зокрема ІЛ-4, ІЛ-5, IgE, IgG, IgM та IgA, їх не доцільно самотійно використовувати для встановлення фенотипу тяжкої БА.

Відносний вміст IgG, що перевищує 12,0 мг/мл, та IgA більше 1,8 мг/мл дозволяє зі специфічністю 81,8 % верифікувати тяжку БА та персоналізувати лікувальну тактику в даних пацієнтів.

Концентрація IgG понад 12,0 мг/мл у 6 разів підвищувала шанси наявності тяжкої БА у дітей, а збільшений до 1,8 мг/мл відносний вміст IgA — практично у 9 разів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Фактори ризику виникнення бронхіальної астми у дітей* / В. П. Кост-

роміна, О. О. Речкіна, К. О. Мельник [та ін.] // *Астма та алергія*. — 2013. — № 2. — С. 21–24.

2. *Гнатейко О. З.* Деякі аспекти проблеми ранньої діагностики бронхіальної астми в дітей / О. З. Гнатейко, О. М. Садова // *Здоров'я ребенка*. — 2009. — № 5 (20). — С. 34–38.

3. *Уманець Т. Р.* Клініко-анамnestичні особливості фенотипів бронхіальної астми у дітей / Т. Р. Уманець // *Перинатология и педиатрия*. — 2011. — № 2 (46). — С. 69–71.

4. *Green R. H.* Stability of inflammatory phenotypes in asthma / R. H. Green, I. Pavord // *Thorax*. — 2012. — N 67. — P. 665–667.

5. *Mechanisms of peripheral tolerance to allergens* / O. U. Soyer, M. Akdis, J. Ring [et al.] // *Allergy*. — 2013. — N 68. — P. 161–170.

6. *Limited Short-term Steroid Responsiveness Is Associated With Thickening of Bronchial Basement Membrane in Severe Asthma* / A. Bourdin, S. Kleis, M. Chakra [et al.] // *Chest*. — 2012. — N 141 (6). — P. 1504–1511.

7. *Golden M. P.* Leukotrienes / M. P. Golden, W. R. Henderson // *The New England Journal of Medicine*. — 2009. — N 357. — P. 1841–1854.

8. *Local and systemic immunological parameters associated with remission of asthma symptoms in children* / S. Wasserman, P. Nair, D. Snider [et al.] // *Allergy, asthma and clinical immunology*. — 2012. — Vol. 8, Iss. 16. — P. 1–14.

9. *IgE in childhood asthma: relevance of demographic characteristics and polysensitisation* / M. Silvestri, A. Pistorio, E. Battistini [et al.] // *Arch. Dis. Child*. — 2010. — N 95. — P. 979–984.

10. *Kim H.* Asthma / H. Kim, J. Mazza // *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*. — 2011. — Vol. 7, N 1. — P. 1102–1111.

## REFERENCES

1. *Kostromina V.P., Rechkina O.O., Melnik K.O.* et al. Factors of risk of bronchial asthma origin in children. *Asthma and allergy* 2013; 2: 21–24.

2. *Gnateiko O.Z., Sadova O.M.* Some aspects of problem of in-time diagnosis of bronchial asthma in children. *Zdorovyie rebyonka* 2009; 5 (20): 34–38.

3. *Umanets' T.R.* Clinical-anamnestic features of phenotypes of bronchial

asthma in children. *Perinatologiya i pediatriya* 2011; 2 (46): 69–71.

4. *Green R.H., Pavord I.* Stability of inflammatory phenotypes in asthma. *Thorax* 2012; 67: 665–667.

5. *Soyer O.U., Akdis M., Ring J.* et al. Mechanisms of peripheral tolerance to allergens. *Allergy* 2013; 68: 161–170.

6. *Bourdin A., Kleis S., Chakra M.* et al. Limited Short-term Steroid Responsiveness Is Associated With Thickening of Bronchial Basement Membrane in Severe Asthma. *Chest* 2012; 141 (6): 1504–1511.

7. *Golden M.P., Henderson W.R.* Leukotrienes. *The New England Journal of Medicine* 2009; 357: 1841–1854.

8. *Wasserman S., Nair P., Snider D.* et al. Local and systemic immunological parameters associated with remission of asthma symptoms in children. *Allergy, asthma and clinical immunology* 2012; 8, Iss. 16: 1–14.

9. *Silvestri M., Pistorio A., Battistini E.* et al. IgE in childhood asthma: relevance of demographic characteristics and polysensitisation. *Arch. Dis. Child* 2010; 95: 979–984.

10. *Kim H., Mazza J.* Asthma. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology* 2011; 7 (1): 1102–1111.

Надійшла 5.05.2014



Н. А. Мацегора, А. В. Місюна

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ВІДНОВНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ, ПОЄДНАНУ З ХРОНІЧНИМ ОБСТРУКТИВНИМ ЗАХВОРЮВАННЯМ ЛЕГЕНІВ, ПРИ ЗАСТОСУВАННІ НЕБУЛАЙЗЕРНОЇ БРОНХОЛІТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ НА ТЛІ ВЕРАПАМІЛУ ТА СИДНОФАРМУ (за даними клініко-біохімічних показників)

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.233-002-036.12

Н. А. Мацегора, А. В. Мисюна

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В СОЧЕТАНИИ С ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НЕБУЛАЙЗЕРНОЙ БРОНХОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ФОНЕ ВЕРАПАМИЛА И СИДНОФАРМА (ПО ДАННЫМ КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ)**

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

Изучена эффективность восстановительного лечения больных артериальной гипертензией в сочетании с хроническим обструктивным заболеванием легких в результате комплексного лечения с применением верапамила и сиднофарма (ЛК-1), а также верапамила, сиднофарма и небулайзерной бронхолитической терапии (ЛК-2). Показано, что комплексная терапия с использованием ЛК-2 способствовала более быстрому и высокому клиническому эффекту относительно клинических показателей в сравнении с больными, которые получали только медикаментозную гипотензивную терапию (ЛК-1). Применение в восстановительном лечении небулайзерной бронхолитической терапии привело к уменьшению системных гипоксических явлений, улучшению липидного обмена, окислительно-восстановительных процессов, активизации факторов антиоксидантной защиты, что способствовало позитивному клиническому эффекту.

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, хроническое обструктивное заболевание легких, восстановительная гипотензивная и небулайзерная бронхолитическая терапия.

UDC 616.233-002-036.12

N. A. Matsegora, A. V. Misyuna

**EFFICIENCY OF COMPLEX REHABILITATIVE TREATMENT OF PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION IN COMBINATION WITH CRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE WITH INCLUDING OF NEBULAYZER OF BRONCHOLITHIC THERAPY BASED ON VERAPAMILUM AND SYDNOPHARMUM (ACCORDING TO CLINICAL-BIOCHEMICAL INDICES)**

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

In work it was studied efficiency of rehabilitative treatment of patients with arterial hypertension in combination with cronic obstructive pulmonary disease as a result of medical complexes, with use of Verapamilum and Sidnofarmum (medical complex 1), and also Verapamilum, Sidnofarmum and nebulizer of broncholithic therapy (medical complex 2).

It was demonstrated that complex therapy with the use of medical complex 2 promoted to more rapid and high clinical effect in relation to clinical indices in comparison with patients which got only medicinal hypotensive therapy (medical complex 1).

The use of nebulizer of broncholithic therapy in rehabilitative treatment resulted in diminishing of the system hypoxic phenomena, improvement of lipid exchange, oxidation-reduction processes, activation of factors of antioxidative defence, that evoked a positive clinical effect.

**Key words:** arterial hypertension, cronic obstructive disease of lungs, rehabilitation hypotensive treatment, nebulayzer broncholithic therapy.

Хронічні обструктивні захворювання легенів (ХОЗЛ) — це повільно прогресуюча необоротна бронхіальна обструкція з наростаючими явищами хронічної дихальної недостатності, розвитком емфіземи леге-

нів, пневмосклерозу, прогресуванням фіброзної деструкції легенів і частими загостреннями. Уже на ранніх стадіях захворювання домінує системна киснева недостатність, яка спочатку виникає лише при підви-

щеному фізичному навантаженні або нервових станах [1; 2].

У хворих на артеріальну гіпертензію (АГ) виникнення гіпоксії зумовлене в основному прогресуючим розладом функції серцево-судинної системи.



Крім того, склерозування кровоносних судин легенів обтяжує роботу правого шлуночка серця, створюючи умови для розвитку в подальшому серцево-легеневої недостатності [3; 4].

При АГ у поєднанні з ХОЗЛ, як правило, виникає складний синдром кисневої недостатності різної тяжкості та, якщо так можна сказати, різної злоякісності. Киснева недостатність накладає відбиток на розвиток хвороби і зумовлює виникнення низки клінічних симптомів. Гіпоксія супроводжується у хворих задишкою, загальною слабкістю, зниженням працездатності, поганим сном, відчуттям тяжкості та болю в голові, появою запаморочень, заруднинних болів та ін. [5; 6]. Надзвичайно тяжким ускладненням захворювання є ураження тканинних окисно-відновних ферментних систем зі зниженням споживання в тканинах кисню (гістотоксична гіпоксія).

Тому вивчення впливу лікувальних засобів на ключові метаболічні процеси, до яких належать ліпідний обмін, перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), стан антиоксидантного захисту (АОЗ), сприятиме науково обґрунтованому диференційованому вибору терапії АГ, що перебігає у поєднанні з ХОЗЛ.

**Мета** роботи — вивчити динаміку клінічного перебігу та ліпідного обміну у хворих на АГ, поєднану з ХОЗЛ, при комплексному відновному лікуванні із застосуванням верапамілу, сиднофарму та небулайзерної бронхолітичної терапії.

### **Матеріали та методи дослідження**

Проведено дослідження 67 хворих на АГ, що поєднана з ХОЗЛ 1–2-ї стадії у стані ремісії, з яких 35 жінок і 32 чоловіки. Середній вік досліджуваних чоловіків — (59,28±2,64) року, жінок — (60,31±3,23) року.

Як базова терапія АГ нами були застосовані антагоніст іонів кальцію верапаміл і периферичний венозний вазодилатор сиднофарм, які знижують переднавантаження серця, створюють коронаролітичний ефект, поліпшують функціональну здатність міокарда [3; 4].

Усі хворі були поділені на дві групи. При АГ із супровідним ХОЗЛ хворим 1-ї групи призначали такий лікувальний комплекс (ЛК-1): верапаміл дозою 80 мг (при синдромі тахіаритмії) разом із сиднофармом дозою 1–2 мг тричі на добу (1 мг тричі на добу — при виникненні головного болю), а за відсутності синдрому тахікардії — верапаміл дозою 40 мг тричі на добу, сиднофарм — за вказаною схемою.

Пацієнтам 2-ї групи додатково до вищевказаної медикаментозної терапії призначали ЛК-2: небулайзерну терапію з інгаляцією бронхолітиків.

Схема аерозольної терапії: при проведенні симпатоміметичної терапії звичайним режимом було призначення салбутамолу (Вентолін™ Небули) дозою 2,5 мг (або фенотеролу дозою 0,1 мг) за допомогою небулайзера кожні 4–6 год протягом перших 24–48 год терапії. Відповідь на інгаляційний  $\beta_2$ -агоніст спостерігалася, як правило, за 10–15 хв (зменшення симптомів бронхіальної обструкції); якщо полегшення симптомів не було достатнім, то призначали повторні інгаляції (до 5–7 на курс) [7].

У роботі вивчали загальноклінічні показники, біохімічні дані хворих (ліпідограма, ПОЛ, АОЗ, глюкоза крові натще, креатинін, гематокрит, контроль гемодинамічних параметрів, електро- й ехокардіографія). Результати статистично опрацьовані.

### **Результати дослідження та їх обговорення**

До початку відновної терапії хворі обох клінічних груп скаржилися на частий головний біль — відповідно 87,9 і 88,2 %, шум у голові — 57,6 і

61,8 %, миготіння мушок в очах — 45,5 і 44,1 %, запаморочення — 39,4 і 41,1 %, відчуття порушень ритму серця у вигляді посиленого серцебиття або виникнення «перебоїв» — 60,6 і 64,7 %, біль у ділянці серця — 66,7 і 70,6 % (табл. 1). Біль у ділянці серця (кардіалгії) та порушення ритму часто виникали вночі і, як правило, погано піддавалися традиційній фармакотерапії, що була призначена на амбулаторному етапі.

Суб'єктивні відчуття і дані об'єктивного дослідження свідчили про наявність патологічного процесу не тільки з боку серцево-судинної, а й дихальної системи. У більшості хворих виявлено утруднення дихання при фізичному навантаженні — відповідно у 72,7 і 79,4 %, що супроводжувалося кашлем — у 54,5 і 58,8 %, з утрудненим відходженням мокротиння — у 30,3 і 47,1 %, відчуттям хрипів за грудниною — у 24,2 і 26,4 %.

Крім загальносоматичних скарг, що характерні при патології серцево-судинної та дихальної систем, у хворих до початку лікування виявлені астеновегетативні реакції (у 90,9 % хворих 1-ї групи та 94,1 % — 2-ї групи) у вигляді загальної слабкості, підвищеної втомлюваності, зниження настрою та толерантності до звичайного фізичного навантаження.

Після проведеного відновного лікування за ЛК-1 і ЛК-2 у досліджуваних хворих спостерігалася значне зменшення або відсутність клінічних ознак коморбідної патології. Однак рівень показників, що віддзеркалюють якість лікування, з оцінкою «відсутнє» та «значне зменшення» симптомів був вищим у пацієнтів, які отримували ЛК-2 (див. табл. 1).

Після лікування в обох групах хворих виявлено позитивні зміни гемодинаміки та ліпідного спектра крові. Систолічний артеріальний тиск знизився





**Динаміка клінічних ознак у хворих на артеріальну гіпертензію із супровідним хронічним обструктивним захворюванням легенів під впливом відновного лікування із застосуванням верапамілу, сиднофарму та небулайзерної терапії, n=67, абс. (%)**

Показник	До лікування ЛК-1, n=33	Після лікування ЛК-1			До лікування ЛК-2, n=34	Після лікування ЛК-2		
		Відсутнє	Значне зменшення	Незначне зменшення		Відсутнє	Значне зменшення	Незначне зменшення
Головний біль	29 (87,9)	9 (31,0)	14 (48,3)	6 (20,7)	30 (88,2)	12 (40,0)	14 (46,7)	4 (13,3)
Шум у голові	19 (57,6)	5 (26,3)	11 (57,9)	3 (15,8)	21 (61,8)	8 (38,1)	10 (47,6)	3 (14,3)
Миготіння мушок в очах	15 (45,5)	7 (46,7)	5 (33,3)	3 (20,0)	15 (44,1)	7 (46,7)	6 (40,0)	2 (13,3)
Запаморочення	13 (39,4)	5 (38,5)	5 (38,5)	3 (23,1)	14 (41,1)	5 (35,7)	7 (50,0)	2 (14,3)
Відчуття порушень ритму серця	20 (60,6)	5 (25,0)	11 (55,0)	4 (20,0)	22 (64,7)	7 (31,8)	13 (59,1)	2 (9,1)
Біль у ділянці серця	22 (66,7)	7 (31,8)	13 (59,1)	2 (9,1)	24 (70,6)	9 (37,5)	14 (58,3)	1 (4,2)
Утруднення дихання	24 (72,7)	2 (8,3)	6 (25,0)	16 (66,7)	27 (79,4)	8 (29,6)	14 (51,9)	5 (18,5)
Кашель	18 (54,5)	0	6 (33,3)	12 (66,7)	20 (58,8)	4 (20,0)	12 (60,0)	4 (20,0)
Хрипи	8 (24,2)	0	3 (37,5)	5 (62,5)	9 (26,4)	2 (22,2)	5 (55,6)	2 (22,2)
Мокротиння	10 (30,3)	0	3 (30,0)	7 (70,0)	16 (47,1)	2 (12,5)	8 (50,0)	6 (37,5)
Астенічний синдром	30 (90,9)	6 (20,0)	14 (46,7)	10 (33,3)	32 (94,1)	8 (25,0)	16 (50,0)	8 (25,0)

з  $(162,4 \pm 9,6)$  до  $(140,6 \pm 8,0)$  мм рт. ст. у пацієнтів 1-ї групи і з  $(163,2 \pm 9,6)$  до  $(138,2 \pm 8,4)$  мм рт. ст. — у хворих 2-ї групи ( $p < 0,05$ ). Діастолічний артеріальний тиск знизився зі  $(104,4 \pm 9,8)$  до  $(86,2 \pm 7,8)$  мм рт. ст. і з  $(105,6 \pm 8,6)$  до  $(83,6 \pm 8,2)$  мм рт. ст. відповідно у пацієнтів 1-ї і 2-ї груп ( $p < 0,05$ ).

Зниження артеріального тиску на тлі поліпшення самопочуття, зменшення ознак і ступеня тяжкості астеновегетативного синдрому відбувалося у пацієнтів із ЛК-1 на 5–6-ту добу, а у хворих із ЛК-2 — на 2-гу–3-тю добу від початку лікування. Більш виражені показники незадовільних результатів лікування з оцінкою «незначне зменшення» клінічних ознак спостерігалися при дослідженні органів дихання у хворих, які отримували ЛК-1, ніж у пацієнтів, що лікувалися за методикою ЛК-2.

Проникність клітинних мембран та їх функціонування тісно пов'язані з окисно-відновними процесами, що протікають внутрішньоклітинно і, особливо, зі станом системи ПОЛ, яка у хворих на АГ у поєднанні з ХОЗЛ характеризувалася на-

громадженням малонового діальдегіду (МДА) та дієнових кон'югатів у сироватці крові при достовірному зниженні показників АОЗ — каталази й супероксиддисмутази (СОД) ( $p < 0,001$ ; табл. 2).

Після закінчення реабілітаційного курсу співвідношення ПОЛ і АОЗ істотно (у 1-й групі —  $p < 0,01$ ; у 2-й групі —  $p < 0,001$ ) знизилася за рахунок підвищення факторів захисту. При цьому відмінності за вмістом кінцевого продукту ПОЛ — МДА у хворих досліджуваних груп не були достовірними. Слід зауважити, що рівні каталази, СОД значно зросли (відповідно  $p_1 < 0,01$  і  $p_1 < 0,02$  у 1-й групі;  $p_1 < 0,001$  і  $p_1 < 0,002$  — у 2-й групі), але не досягли контрольних цифр у пацієнтів, що отримували як ЛК-1, так і ЛК-2, однак наблизилися до показників у здорових осіб (переважно у хворих 2-ї групи).

Зменшення активності фруктозодифосфатази в еритроцитах хворих на АГ, поєднану з ХОЗЛ, на тлі різкого зниження редокс-стану свідчило про збільшення окиснювальних властивостей у тканинах, характерне для розвитку явищ компенсо-

ваного метаболічного алкалозу, тимчасом як застосування ЛК-2 значно сприяло запуску ацидотичних змін, а саме: прискоренню окиснення жирних кислот, спрямованого на компенсацію метаболічного алкалозу. У цьому разі окиснені метаболіти утворюються при дезамінуванні амінокислот.

Одночасне зниження функціонування глутатіонового захисту тканин і підвищення вмісту МДА, що свідчило про прискорення процесів ПОЛ, вказувало на участь вільнорадикального окиснення (ВРО) при даній патології у регуляторних механізмах, наприклад, в індукції перенесення іонів через мембрани.

Після закінчення курсу лікування підвищення рівня сироваткового антиоксиданту церулоплазміну, що виконував роль «перехоплювача» супероксидних радикалів і викликав інгібування ПОЛ, було також більш вираженим при призначенні хворим ЛК-2, що зумовлене, очевидно, активною участю цього ферменту в компенсаторно-приспосовних процесах за наявності оксидативного стресу.



Таблиця 2

**Динаміка показників метаболічної системи  
перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту  
у хворих на артеріальну гіпертензію із супровідним  
хронічним обструктивним захворюванням легенів  
під впливом ЛК-1 та ЛК-2, M±m**

Показник	Контроль (здорові), n=16	1-ша група, n=20		2-га група, n=20	
		До ліку- вання	Після лі- кування	До ліку- вання	Після лі- кування
СОД (у сироватці крові), од.(гНв·хв)	3,9±0,1	1,81±0,05 p<0,001	2,01±0,07 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	1,90±0,05 p<0,001	2,28±0,13 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,002 0,05<p <sub>2</sub> <0,1
МДА (у сироватці крові), мкмоль/л	3,2±0,2	6,5±0,2 p<0,001	4,1±0,3 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	7,2±0,3 p<0,001	3,8±0,2 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> >0,6
Каталаза/МДА	5,25	1,49	2,93	1,23	3,74
СОД/МДА	1,3	0,28	0,49	0,26	0,6
Дієнові кон'югати (у сироватці крові), ммоль/л	1,32± ±0,07	2,2±0,2 p<0,001	1,69±0,09 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	2,4±0,2 p<0,001	1,43±0,06 p>0,25 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,02
Церулоплазмін (у сироватці крові), мг%	29,9±1,2	20,6±0,8 p<0,001	30,7±1,3 p>0,8 p <sub>1</sub> <0,001	22,4±0,8 p<0,001	36,1±1,3 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,002 p <sub>2</sub> <0,002
Глутатіонредуктаза (в еритроцитах), нмоль/(с·мл)	24,1±0,1	16,6±1,1 p<0,001	25,6±0,9 p>0,1 p <sub>1</sub> <0,001	15,4±1,0 p<0,001	20,4±1,8 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 0,05<p <sub>2</sub> <0,1
Фруктозо-дифосфатаза (в еритроцитах), нмоль/(с·мл)	0,64± ±0,01	0,38± ±0,01 p<0,001	0,58±0,02 p<0,002 p <sub>1</sub> <0,001	0,30±0,01 p<0,001	0,62±0,01 p>0,2 p <sub>1</sub> <0,001 0,05<p <sub>2</sub> <0,1

*Примітка.* Достовірність відмінностей: p — щодо контролю; p<sub>1</sub> — щодо групи до лікування; p<sub>2</sub> — після лікування за ЛК-1 і ЛК-2.

Отримані позитивні зміни в системі метаболічної регуляції ВРО під впливом лікувальних комплексів, що вивчалися, свідчать про патогенетичний характер саногенетичної дії їх у досліджуваних хворих.

Прискорене використання жирних кислот у процесах окиснення і пероксидації призводить до зменшення вмісту в еритроцитах хворих фосфоліпідів, а також зниження відношення фосфоліпідів : холестерин, підвищення вмісту В-ліпопротеїдів, рівня ефірів холестерину, що сприяє розвитку атеросклерозу, прогресуванню і ускладненому перебігу АГ. По-

казники ліпідогам еритроцитів крові досліджуваних пацієнтів достовірно перевищували дані у здорових людей.

Застосування ЛК-1 і ЛК-2 привело у хворих на АГ із супровідним ХОЗЛ до зниження рівня В-ліпопротеїдів, тригліцеридів, збільшення вмісту фосфоліпідів і відношення фосфоліпідів : холестерин в еритроцитах на тлі зниження ефірів холестерину (табл. 3).

Позитивна динаміка метаболічних показників зумовила поліпшення самопочуття, зменшення проявів суб'єктивних й об'єктивних критеріїв поєднаної патології серцево-судинної

й легеневої систем, більш виражене у хворих, що застосовували ЛК-2.

Порівняльний аналіз ефективності безпосередніх результатів показав таке. Ефективність лікування при призначенні ЛК-1 з оцінкою «значне поліпшення» становила 18,6 %; «поліпшення» — 42,9 %; «неістотне поліпшення» — 38,5 % випадків. Ефективність ЛК-2 з характеристикою «значне поліпшення» спостерігалася у 34,2 % хворих; «поліпшення» — у 42,1 % пацієнтів, тимчасом як «неістотне поліпшення» відмічено у 23,7 % випадків.

Позитивні результати при призначенні ЛК-1 сягали 61,5 %; ЛК-2 — 76,3 %.

### Висновки

Отримані клініко-біохімічні дані дозволили зробити такі висновки:

1. Комплексна терапія з використанням верапамілу і сиднофарму (ЛК-1), а також сиднофарму, верапамілу та небулайзерної бронхолітичної терапії (ЛК-2) сприяє високому клінічному ефекту у хворих на АГ у поєднанні з ХОЗЛ.

2. На фоні поліпшення самопочуття пацієнтів обох лікувальних груп у хворих з ЛК-2 у більш ранні терміни, ніж у хворих з ЛК-1, та значно ефективніше знижувався артеріальний тиск, більш позитивною була динаміка клінічних симптомів, особливо з боку бронхолегеневої системи.

3. Застосування у відновному лікуванні небулайзерної бронхолітичної терапії сприяло зменшенню системних гіпоксичних явищ, поліпшенню ліпідного обміну, окисно-відновних процесів, активізації факторів антиоксидантного захисту, що викликало позитивний клінічний ефект.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Фещенко Ю. И.* Контроль над ХОЗЛ — возможен ли он сегодня? *Круглый стол с ведущими пульмонологами Украины / Ю. И. Фещенко // Здоров'я України.* — 2011. — № 1. — С. 1–4.



**Динаміка показників ліпідограми еритроцитів крові  
хворих на артеріальну гіпертензію із супровідним хронічним  
обструктивним захворюванням легенів під впливом ЛК-1 та ЛК-2, М±m**

Показник	ЛК-1, n=33		ЛК-2, n=34		Контроль (здорові), n=16
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	
В-ліпопротеїди, од.	51,30±3,02*	48,2±2,2	52,60±3,22*	40,6±1,9**	36,8±3,6
Тригліцериди, од.	2,38± 0,09*	2,5±0,1**	2,43±0,12	3,28±0,09**	3,27±0,05
Фосфоліпіди, г/л	3,41±0,68*	6,59±1,22**	3,45±0,42*	9,40±0,92**	11,50±0,93
Холестерин, ммоль/л	6,48±0,15*	5,20±0,17**	6,82±0,21*	4,90±0,12**	3,98±0,27

Примітка. Достовірність зміни показників: \* — щодо контролю; \*\* — до та після лікування.

2. Хронічне обструктивне захворювання легень: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, терапія: метод. посібник / Ю. І. Фещенко, Я. О. Дзюблик, В. К. Гаврісюк [та ін.]. — К., 2013. — 52 с.

3. Клинико-функциональные особенности артериальной гипертонии у больных хроническими обструктивными болезнями легких / В. С. Зодіонченко, Т. В. Адашева, Е. В. Шилова [и др.] // РМЖ. — 2003. — № 9. — С. 535–538.

4. Карпов Ю. А. Особенности лечения артериальной гипертонии при хронических обструктивных заболеваниях легких / Ю. А. Карпов, Е. В. Сорокин // РМЖ. — 2003. — № 19. — С. 1048–1051.

5. Рекомендации ВНОК 2008 по лечению артериальной гипертонии // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. — 2008. — № 1/2. — С. 2.

6. Багрий А. Э. Комбинированная терапия в лечении артериальной гипертоний: уверенные шаги / А. Э. Багрий // Здоров'я України XXI сторіччя: мед. газета. — 2008. — № 11 (1). — С. 63.

7. Дубынина В. П. Небулайзерная терапия острых и хронических заболеваний дыхательных путей / В. П. Дубынина. — М., 2011. — 44 с.

#### REFERENCES

1. Feshchenko Yu.I. Control above COPD — whether is it possible today? Round table with leading pulmonologists of Ukraine. *Zdorovya Ukrainy* 2011; 1: 1-4.

2. Feshchenko Yu.I., Dzyublik I.O., Gavrisiuk V.K. et al. Chronic obstructive pulmonary diseases: etiology, pathogenesis, classification, diagnosis, therapy. (Metod. posib.). Kyiv, 2013, 52 p.

3. Zodionchenko V.S., Adasheva T.V., Shilova Ye.V. et al. Clinical-functional features of arterial hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary diseases. *RMG* 2003; 9: 535-538.

4. Karpov Yu.A., Sorokin Ye.V. Features of medical treatment of arterial hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary diseases. *RMG* 2003; 19: 1048-1051.

5. VNOK 2008 recommendations on the medical treatment of arterial hypertension. *Rational farmacoterapiya in cardiology* 2008; 1/2: 2.

6. Bagriy A.E. Combined therapy in the medical treatment of arterial hypertension: sure steps. *Medical newspaper "Zdorov'ya Ukrainy XXI storichchya"* 2008; 11 (1): 63.

7. Dubinina V.P. Nebulizer therapy of acute and chronic diseases of respiratory tracts. Moscow, 2011, 44 p.

Надійшла 18.04.2014

**УДК 616.831-005.1:615.82**

**Т. В. Мироненко, Л. В. Яковлєва, Р. В. Канівець**

## **РЕЗУЛЬТАТИ ЗАСТОСУВАННЯ КОМПЛЕКСУ “ЛОКОМАТ” У РЕАБІЛІТАЦІЇ ХВОРИХ ІЗ НАСЛІДКАМИ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ У ВІДНОВНОМУ ПЕРІОДІ**

Луганський державний медичний університет, Луганськ, Україна,

Луганська міська поліклініка № 10, Луганськ, Україна

**УДК 616.831-005.1:615.82**

**Т. В. Мироненко, Л. В. Яковлева, Р. В. Канівець**

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСА “ЛОКОМАТ” В РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ С ПОСЛЕДСТВИЯМИ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

*Луганский государственный медицинский университет, Луганск, Украина,*

*Луганская городская поликлиника № 10, Луганск, Украина*

Проведено исследование 35 больных в раннем восстановительном периоде ишемического инсульта с помощью клинико-неврологических, вестибулометрических и инструментальных методов исследования.

Установлено, что главными неврологическими проявлениями раннего восстановительного периода ишемического инсульта были вестибулярные и мотосенсорные расстройства, выра-





женность которых зависела от локализации инсульта и тяжести его клинического течения. Комплексная терапия включала применение медикаментозных мероприятий и физического дозированного тренинга с комплексом "Lokomat".

Отмечено положительное влияние проведенной комплексной реабилитации на восстановление функциональной активности вестибулярного анализатора, уменьшение постинсультных моторных расстройств.

**Ключевые слова:** реабилитация, последствия ишемического инсульта, комплекс "Lokomat", вестибулометрия.

**UDC 616.831-005.1:615.82**

**T. V. Myronenko, L. V. Yakovleva, R. V. Kanivets**

## **RESULTS OF APPLYING COMPLEX "LOKOMAT" IN REHABILITATION OF PATIENTS WITH CONSEQUENCES OF ISCHEMIC STROKE IN THE RECOVERY PERIOD**

*The Lugansk State Medical University, Lugansk, Ukraine,*

*The Lugansk City Hospital N 10, Lugansk, Ukraine*

**Background.** Brain stroke remains the actual problem today in angioneuroscience, due to the wide spread of the disease, invalidization and mortality. In the complex rehabilitation therapy, special attention is given to motor disorders, coordination, methods of correction, because it is vestibular and motor dysfunction recover long after ischemic stroke (IS).

**Objective of the work.** To study the effectiveness of using complex "Lokomat" in patients after IS on the basis of neurological examination and method of vestibulometry by registering vestibular evoked potentials (VEP).

**Materials and methods.** Study included 35 patients in the IS early recovery period (1–4 months). The age of patients was 48–65 years.

Examination of the patients was carried out by traditional clinical research methods including otoneurologist, state of spontaneous vestibular reactions, audiometric and of vestibulometric study.

It was established that the main neurological manifestations of early recovery period ischemic stroke were vestibular and motor-sensory disorders, the severity of which depended on the location and severity of the stroke clinical course. Combined therapy includes the use of pharmacological activities and physical training dosed with the complex "Lokomat". The course of treatment with a complex "Lokomat" consisted of 10–20 sessions.

The results were processed using modern statistical methods.

**Results.** The normalization of the clinical condition of patients after IS is accompanied by improvement of noninvasive indicators of functional vestibulometry (changes of long latency period of VEP: N1S, P2S), indicating improvement of excitation in cortical or subcortical areas of the vestibular apparatus.

**Conclusion.** It was indicated a positive impact on the conduct of comprehensive rehabilitation on the dynamics of clinical signs of disease, restoration of functional activity of the vestibular apparatus, reduction of post-stroke motor disorders.

**Key words:** rehabilitation, consequences of ischemic stroke, a complex "Lokomat", vestibulometry method.

### **Вступ**

Мозкові інсульти залишаються актуальною проблемою сучасної ангіоневрології, що пов'язано з широкою розповсюдженістю даного захворювання, інвалідизацією та летальністю [3].

В Україні щороку реєструється від 110 до 120 тис. інсультів, на жаль, до своєї праці повертаються 15–20 % хворих [4].

У комплексі відновної терапії особливу увагу приділяють моторним розладам, порушенням координації рухів, методам їх корекції, тому що саме вестибулярна та моторна дисфункції відновлюються тривалий час після мозкового інсульту [1; 10].

Серед методів відновлення фізична реабілітація має сут-

тєве значення, тому що сприяє активації системної, внутрішньомозкової гемодинаміки, підвищує метаболізм у м'язовій тканині, особливо в паралізованих кінцівках, стимулює роботу вестибулярних, рухових центрів [5; 6].

У клінічній практиці для оцінки адекватності ефективності використання тренажера "Lokomat" у реабілітації хворих у відновному періоді ішемічного інсульту (II) доцільно досліджувати функціональний стан вестибулярної функції як показника, найбільш чутливого до впливу зовнішніх факторів [8; 9].

Нами було використано комплекс для навчання ходи та її корекції "Lokomat", який дозволяє пацієнтам відпрацювати повторні рухи, а також контролювати горизонтальне

і вертикальне переміщення центра маси тіла. Спеціальна система управління відроджує фізіологічну модель ходи людини.

**Мета** дослідження — визначити ефективність використання комплексу "Lokomat" у хворих після II на основі проведення неврологічного обстеження й об'єктивної вестибулометрії методом реєстрації вестибулярних викликаних потенціалів (ВВП).

### **Матеріали та методи дослідження**

Фізичне тренування пацієнтів за допомогою комплексу "Lokomat" було проведено паралельно зі стандартною медикаментозною терапією 35 хворих (14 чоловіків і 21 жінка) у ранньому відновному пе-



ріоді II (1–4 міс.). Вік пацієнтів становив 48–65 років (середній вік (51,6±3,1) року). Контрольну групу утворили 25 осіб аналогічного віку, хворих на атеросклеротичну енцефалопатію I ступеня. У 15 хворих основної групи був кардіоемболічний підтип II, а у 20 осіб — атеротромботичний; у 14 випадках II локалізувався у каротидному судинному басейні (супратенторіально), у 21 спостереженні — у вертебро-базиллярному (субтенторіально).

Серед неврологічних синдромів, що спостерігалися у відновному періоді II, переважали такі: вестибуло-атактичний — 23 %, пірамідної недостатності — 12 %, дисфазії — 9 %, зниження когнітивної діяльності легкого і помірного ступенів — 16 %.

При обстеженні хворих були використані традиційні загальноклінічні методи, ретельно вивчався неврологічний статус. Крім того, було проведено стандартне отоневрологічне обстеження: огляд отоневролога, вивчення стану спонтанних вестибулярних реакцій, аудіометричне та вестибулометричне дослідження.

Вестибулометричне дослідження проводили до та після фізичного тренування на комплексі "Lokomat" на основі вивчення стану вестибулярних реакцій шляхом їх реєстрації і даних експериментальної проби (об'єктивна вестибулометрия — ОВ) — ВВП, що виконувалася на аналізаторі вестибулярної чутливості із застосуванням методів автоматизованого пошуку чутливості (за зовнішнім стандартом). До уваги брали загальноприйняті показники: пік P1 — час появи збудження периферичної частини рецептора і стовбура мозку; N1 — збудження підкіркових центрів; P2 — розповсюдження збудження у кірковій зоні аналізатора.

Розраховували значення латентних піків (ЛП) ВВП, що дозволяє виявити анатомо-

топографічні деталі патологічного процесу, який розвинувся внаслідок мозкового інсульту [2; 7].

Курс лікування з комплексом "Lokomat" складався з 10–20 сеансів залежно від регресу клінічних проявів і патологічних змін з боку функціонального стану моторного та вестибулярного аналізаторів.

При легкому ступені вестибулярних і відповідно моторних розладів тренування за допомогою комплексу "Lokomat" проводили терміном 30–40 хв протягом 10 днів двічі на добу. При помірному ступені вираженості рухових розладів курс фізичної реабілітації збільшували до 20 сеансів.

Отримані результати спостереження були оброблені за допомогою сучасних статистичних методів.

### Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз результатів дослідження проведено у групах хворих з наслідками II залежно від кількості сеансів фізичного тренування, тобто короткочасне (10 сеансів) або тривале (до 20 сеансів), і локалізації II (супра- або субтенторіально).

Хворі з наслідками II частіше за все скаржилися на головний біль (68 %), періодичне запаморочення (79 %), пору-

шення рівноваги (80 %). Більш стійким симптомокомплексом, що практично завжди спостерігався в обстежених, була вегетативна дисфункція (78 %).

Аналіз даних тональної аудіометрії виявив у 11 % хворих наявність горизонтально-спадного типу аудіометричних кривих за типом звукосприйняття, що відповідає змінам при нейросенсорній приглухуватості.

У хворих після II, які одержали 10 сеансів терапії на комплексі "Lokomat", за даними ВВП, у початковому періоді до лікування в цілому по групі спостерігали наявність змін величини ЛП P2 ліворуч, які подовжувалися порівняно з аналогічними показниками контрольної групи. Це вказувало на порушення збудження у кірковому центрі вестибулярного аналізатора внаслідок II (табл. 1, 2) незалежно від переважної його локалізації.

Праворуч ВВП-показники не змінювалися порівняно з контрольними даними, однак величина ЛП P2 відрізнялася від показника ліворуч ( $p < 0,05$ ). Аналізуючи результати лікування після 5 сеансів тренінгу "Lokomat", ми встановили зменшення асиметрії та різноспрямованості змін показників ЛП ВВП між правим і лівим боками за величиною показника ЛП P2 та зменшення відхилення показника ЛП P2 ліворуч

Таблиця 1

### Динаміка показників латентних піків вестибулярних викликаних потенціалів після тренінгу "Lokomat" (10 сеансів) у хворих із супратенторіальними ішемічними інсультами, мс, M±m

Показник	Контрольна група, n=25	Хворі з II, n=14	
		До лікування	Після лікування
P1S	22,50±0,65	21,69±0,54	21,23±0,48
P1D	22,33±0,65	22,30±0,81	22,30±0,49
N1S	73,33±1,47	74,50±1,20	73,02±0,73
N1D	73,75±1,24	73,50±1,86	74,30±0,78
P2S	123,50±2,44	127,83±1,02*	124,64±0,99**
P2D	126,58±3,26	124,50±0,99	124,46±0,99

Примітка. У табл. 1, 2, 4: \* — вірогідність різниці між показниками контрольної групи та групи обстежених до лікування ( $p < 0,05$ ); \*\* — вірогідність різниці між групами до та після лікування ( $p < 0,05$ ).



Таблиця 2

**Динаміка показників латентних піків вестибулярних викликаних потенціалів після тренінгу "Lokomat" (10 сеансів) у хворих із субтенторіальними ішемічними інсультами, мс, M±m**

Показник	Контрольна група, n=25	Хворі з ІІ, n=21	
		До лікування	Після лікування
P1S	23,14±0,60	20,76±0,26	21,50±0,53
P1D	23,43±0,60	22,27±0,79	22,75±0,53
N1S	74,00±0,91	74,50±0,64	73,75±0,80
N1D	75,14±0,92	74,25±0,83	74,75±0,71
P2S	123,50±0,60	127,79±1,06*	124,72±0,53**
P2D	126,85±1,51	122,64±1,31	124,75±0,49

порівняно з величинами до лікування незалежно від локалізації ІІ.

При аналізі індивідуальних величин ЛП ВВП у хворих цієї групи до лікування (див. табл. 2) встановлено наявність різних типів реакції змін показників ЛП P1, P2 та N1 після ІІ порівняно з даними у контрольній групі: подовження чи скорочення часу появи піків ВВП (табл. 3). Частота зазначених варіантів змін показників до лікування була майже однаковою, після лікування з комплексом "Lokomat" (10 сеансів) частота асиметрії та скорочення часу появи піків ВВП зменшилася.

Порівнюючи показники ЛП ВВП у хворих з наслідками ІІ, які отримали 20 сеансів "Lokomat" у вихідному стані, з аналогічними показниками контрольної групи, виявили вірогідне подовження величин ЛП N1 ліворуч, що свідчило про гальмування проведення імпульсів у підкіркових вестибулярних центрах (табл. 4).

При аналізі індивідуальних показників у більшості хворих цієї групи виявлено наявність асиметрії величин ЛП P1, N1, P2 та превалювання частоти подовження виникнення ЛП P2, що вказувало на частіші зміни у кірковій зоні вестибулярного аналізатора за типом

гальмування розповсюдження збудження. Частота варіантів змін ЛП P1 і N1 була майже однаковою.

Після проведення 20 сеансів "Lokomat" зареєстровано зміну показника ЛП N1, який зменшувався порівняно з величиною до лікування, що відображало покращання процесів збудження у кірковій зоні вестибулярного аналізатора. При індивідуальному аналізі досліджуваних показників відмічено зниження частоти варіанта швидкості та вираженості коливань різниці змінених показників.

Таким чином, після тренінгу з комплексом "Lokomat" (5–10 сеансів) спостерігали позитивний клінічний ефект, який полягав у покращанні загального стану хворих, збільшенні обсягу рухів і сили у кінцівках, зменшенні осередкової неврологічної симптоматики.

Нормалізація клінічного стану пацієнтів після ІІ супроводжувалася нормалізацією або покращанням показників неінвазивної функціональної ОВ (за змінами тривалості ЛП ВВП: N1S, P2S), що вказувало на поліпшення проведення збудження у підкірковій або кірковій зонах вестибулярного аналізатора.

Таблиця 3

**Варіанти змін показників латентних піків вестибулярних викликаних потенціалів до та після тренінгу "Lokomat" у хворих з ішемічними інсультами залежно від терміну лікування**

Варіанти змін	P1		N1		P2	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
<b>5 сеансів</b>						
Частота асиметрії показників між правим і лівим боком	12	9	16	14	16	16
Частота подовження часу появи піків ВВП	9	8	8	7	9	7
Частота скорочення часу появи піків ВВП	5	1	8	6	7	9
Максимальна різниця	6	6	12	6	22	8
<b>5–10 сеансів</b>						
Частота асиметрії показників між правим і лівим боком	13	6	18	12	16	11
Частота подовження часу появи піків ВВП	4	4	8	10	11	11
Частота скорочення часу появи піків ВВП	3	2	10	—	6	1
Максимальна різниця	6	4	10	6	8	6





Таблиця 4

**Динаміка показників латентних піків  
вестибулярних викликаних потенціалів  
після тренінгу "Lokomat" (10–20 сеансів)  
у хворих після ішемічних інсультів, мс, М±m**

Показник	Контрольна група, n=25	Хворі з субтенторіальним ІІ, n=21	
		До лікування	Після лікування
P1S	21,50±0,65	21,76±0,59	21,17±0,29
P1D	22,33±0,65	21,07±0,42	22,35±0,57
N1S	73,33±1,47	75,99±0,64*	73,04±0,80**
N1D	73,75±1,24	74,70±0,83	74,47±0,71
P2S	123,50±2,44	125,29±1,09	125,10±0,49
P2D	126,58±3,26	125,64±1,31	125,64±0,69

### Висновки

Аналіз показників ОВ у хворих під час відновного періоду ІІ у динаміці після впливу "Lokomat"-терапії свідчить про нормалізацію проведення нервового імпульсу провідним вестибулярним шляхом, відновлення функціональної активності вестибулярного аналізатора, зменшення вираженості післяінсультних моторних і координаторних розладів.

Установлені позитивні зміни показників вестибулометрії спостерігалися за величинами ЛП ВВП як при короткотривалих (10 сеансів), так і довготривалих (10–20 сеансів) "Lokomat"-терапії, яка проводилася під контролем динаміки клінічних ознак. Ефективність лікування не залежала від локалізації ІІ.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Епифанов В. А. Реабілітація больных, перенесших инсульт / В. А. Епифанов. – М. : Медпресс-информ, 2006. – 246 с.
2. Зубкова О. В. Дослідження довголатентних вестибулярних викликаних потенціалів мозку при легкій черепно-мозковій травмі / О. В. Зубкова // Український медичний часопис. – 2008. – № 2 (64). – С. 112–115.
3. *Современные* аспекты нейро-реабилитации постинсультных больных / А. А. Козелкин, А. В. Ревенько, С. А. Медведкова, Л. В. Субботовская // Международный неврологический журнал. – 2010. – № 8 (38). – С. 20–27.
4. Лисенюк В. П. Реабілітаційна медицина: основні поняття та дефі-

ніції / В. П. Лисенюк // Международный неврологический журнал. – 2012. – № 8 (54). – С. 23–25.

5. Реабілітація пацієнтів після мозкових інсультів: метод. рекомендації / упоряд. : Т. В. Мироненко, В. В. Євтушенко [та ін.]. – Луганськ, 2011. – 82 с.

6. *Фізичні чинники в медичній реабілітації* / за ред. В. М. Сокрута, В. М. Козакова. – Донецьк : ДонНМУ, 2008. – 576 с.

7. Черникова Л. А. Роботизированные системы в нейрореабилитации / Л. А. Черникова // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2009. – Т. 3, № 3. – С. 30–35.

8. Colombo R. Assessing mechanisms of recovery during robot-aided neurorehabilitation of the upper limb / R. Colombo, F. Pisano, S. Micera // *Neurorehabil Neural Repair*. – 2008. – Vol. 22. – P. 50–63.

9. *Effects of Stroke Severity and Training Duration on Locomotor Recovery After Stroke: A Pilot Study* / P. Plummer, A. Behrman, P. Duncan [et al.] // *Neurorehabil Neural Repair*. – 2007. – Vol. 21 (2). – P. 137–151.

10. Schmahmann J. Cerebellar stroke without motor deficit: Clinical evidence for motor and non-motor domains within the human cerebellum / J. Schmahmann, J. MacMore, M. Jange // *Neuroscience*. – 2009. – Vol. 3 (162). – P. 852–861.

### REFERENCES

1. Epifanov V.A. Reabilitatsiya bol'nykh, perenesshih insul't [Rehabilitation of stroke patients]. Moscow, Medpress-inform, 2006. 246 p.
2. Zubkova O.V. Study of long latent vestibular evoked potentials of the brain in mild traumatic brain injury. *Ukr. Medchasopys* 2008; 2 (64): 112-115.

3. Kozelkin A.A., Reven'ko A.V., Medvedkova S.A., Subbotovskaya L.V. Modern aspects of neurorehabilitation of patients after stroke. *Mezhdunarodnyj nevrologicheskij zhurnal* 2010; 8 (38): 20-27.

4. Lysenyuk V.P. Rehabilitation medicine: basic concepts and definitions. *Mezhdunarodnyj nevrologicheskij zhurnal* 2012; 8 (54): 23-25.

5. Myronenko T.V., Yevtushenko V.V., Loshak G.M., Didenko L.V. Reabilitaciya paciyentiv pislya mozkovyh insul'tiv: metod. rekomendatsii [Rehabilitation of patients after cerebral stroke: method. recommendations]. Lugansk, 2011. 64 p.

6. Sokruta V.M., Kozakova V.M. (eds.) *Fizichni chynnyky v medychnij reabilitacii* [Physical factors in medical rehabilitation]. Donetsk, DonNМУ, 2008. 576 p.

7. Chernikova L.A. Robotic systems in neurorehabilitation. *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noy nevrologii* 2009; 3 (3): 30-35.

8. Colombo R., Pisano F., Micera S. Assessing mechanisms of recovery during robot-aided neurorehabilitation of the upper limb. *Neurorehabil Neural Repair* 2008; 22 (3): 50-63.

9. Plummer P., Behrman A., Duncan P., Spigel P., Saracino D., Martin J., Fox E., Thigpen M., Kautz S. Effects of Stroke Severity and Training Duration on Locomotor Recovery After Stroke: A Pilot Study *Neurorehabil Neural Repair* 2007; 21 (2): 137-151.

10. Schmahmann J.D., MacMore J., Jange M. Cerebellar stroke without motor deficit: Clinical evidence for motor and non-motor domains within the human cerebellum *Neuroscience* 2009; 3 (162): 852-861.

Надійшла 22.04.2014



Н. М. Настрада́на

# ЕФЕКТИВНІСТЬ РІЗНИХ МЕТОДІВ ТЕРАПІЇ ЛЕЙКОПЛАКІЇ ШИЙКИ МАТКИ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 618.146-08

Н. Н. Настрада́на

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ТЕРАПИИ ЛЕЙКОПЛАКИИ ШЕЙКИ МАТКИ

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

Преимуществами выполнения лечебной конизации с помощью радиохирургии считают щадящие разрезы, при которых повреждается лишь слой клеток, непосредственно соприкасающийся с электродом; не образуется черный струп, так как не происходит обугливание тканей; дно и края раны имеют белесоватый цвет; нет повышенного раневого отделяемого; рассечение тканей происходит легко; нет необходимости в дополнительной обработке раневой поверхности шейки матки препаратами для улучшения репарации; наблюдаются отсутствие ожога и некроза краев раны; выраженный коагулирующий эффект, что позволяет оперировать практически на «сухом» операционном поле; хорошее заживление раны и гладкий послеоперационный период. При использовании метода радиочастотной электрохирургии сокращается время проведения оперативных вмешательств. Радиохирургический метод лечения заболеваний шейки матки не вызывает образование рубцов, сокращает сроки эпителизации, а главное — сохраняет архитектуру шейки матки. Разработанная дифференцированная тактика ведения пациенток различного возраста в зависимости от формы лейкоплакии, сочетающая методы деструктивного воздействия и противовирусной терапии, позволила достигнуть высокой эффективности лечения.

**Ключевые слова:** лейкоплакия шейки матки, противовирусное лечение, радиохирургия.

UDC 618.146-08

N. M. Nastradina

## EFFICACY OF DIFFERENT METHODS OF TREATMENT OF CERVICAL LEUKOPLAKIA

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

**Purpose** and task of this work was to learn efficiency of medical treatment of different forms of leukoplakia with use of laser and radio wave coagulations in women of different age groups in combination with antibacterial and antiviral therapy.

**Materials and methods.** On the basis of study 2,470 protocols of colposcopic exams for the period of 2010–2013 cervical leukoplakia was revealed in 200 patients, they made up a group of own researches. Depending on the morphologically confirmed form of leukoplakia the patient were divided into two groups: 1st group (164 patients) with a simple cervical leukoplakia; 2nd group — 36 patients with verrucose cervical leukoplakia.

A high-intensive laser surgical device “Lika-Khirurg” (Cherkassy) was used as a source of laser radiation. For the radiosurgical treatment “Fotec E80M” device (Ekaterinburg) was used.

**Results.** There was developed differential management: methods of destructive action on the uterine cervix — laser and radio wave coagulation, immune and antibacterial therapy. Antibacterial therapy was recommended in 100% cases in the 1st and 2nd groups. The obtained data revealed that efficiency of developed medical schemes of different forms of cervical leukoplakia 97.1% in the 1st group and 94.4% — in the 2nd one.

Methods of determination of morphological indices of proliferative activity and quantitative indices of the viral loading were included in the complex diagnosis of different forms of cervical leukoplakia, which allows to define oncologic potential of the leukoplakia form. The greatest oncologic risk had the verrucose leukoplakia.

**Key words:** cervical leukoplakia, antiviral treatment, radiosurgery.

Загальновідомим є той факт, що протягом багатьох років таке захворювання шийки матки, як лейкоплакія, є фоном, на якому можливий розвиток раку шийки матки. Лейкоплакія шийки матки (ЛШМ) сьогодні посідає особливе місце у структурі захворювань шийки матки, оскільки все ще залишається дискусійним питання про патогенез, доброякісність або злоякісність її перебігу. Останніми

роками висловлене припущення про вірусну природу ЛШМ. Частота ЛШМ у популяції становить 1,1 %, а в структурі захворювань шийки матки — 5,2 %. І хоча дана патологія не є такою вже частою, злаякісна трансформація багаточарового плоского епітелію (БПЕ) спостерігається у 31,6 % хворих із ЛШМ, у зв'язку з чим своєчасна діагностика та лікування ЛШМ необхідні для про-

філактики і зниження частоти захворюваності на рак шийки матки. Для вибору правильної тактики щодо ЛШМ необхідно знати і розуміти етіологічні та патогенетичні аспекти виникнення і перебігу цього процесу. Важливим чинником, що сприяє виникненню ЛШМ, на думку багатьох авторів, є тривалий запальний процес, що підтримується порушенням анатомічної будови шийки мат-



ки, а у кожної другої пацієнтки — попередніми різними деструктивними методами дії на шийку матки: діатермокоагуляція, криодеструкція, CO<sub>2</sub>-лазерна вапоризація [1].

Залишається відкритим питання: чому в одних випадках виникає проста ЛШМ, що часто розцінюється як фізіологічний кератоз після інтенсивного і неадекватного медикаментозного або деструктивного лікування ерозії шийки матки, а в інших — верукозна форма ЛШМ із ознаками цервікальної інтраепітеліальної неоплазії (ЦІН) різного ступеня тяжкості. Особливе значення в індукції канцерогенезу надається вірусним інфекціям і ключовим вважається вірус папіломи людини (ВПЛ), що має найбільший онкогенний потенціал і є основним екзогенним чинником формування плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень [2]. Інфікування шийки матки ВПЛ є передумовою, але не достатнім чинником для розвитку акту канцерогенезу. Виділяються ендогенні й екзогенні чинники. До ендогенних належить стан імунної системи. Виявлено, що імунодефіцит, який виражається у недостатності клітинної та гуморальної ланок, може відігравати важливу роль у генералізації процесу. До екзогенних належать чинники зовнішнього середовища, особливості сексуальної поведінки, куріння, соціальний статус пацієнток.

**Мета** дослідження — вивчити ефективність лікування різних форм лейкоплакії із застосуванням лазерної та радіохвильової коагуляції у жінок різних вікових груп у комбінації з антибактеріальною, протівірусною терапією.

### Матеріали та методи дослідження

На підставі вивчення 2470 протоколів кольпоскопічних досліджень за період 2010–2013 рр. у 200 пацієнток виявлена ЛШМ, вони утворили гру-

пу власних досліджень (дослідження проведені у жіночій консультації № 1 КУ «Пологовий будинок № 5», Одеса). Залежно від морфологічно підтвердженої форми ЛШМ пацієнтки розділені на дві групи: першу групу утворили 164 пацієнтки із простою формою ЛШМ; другу групу — 36 пацієнток із верукозною формою ЛШМ, причому до цієї групи увійшли пацієнтки з лейкоплакією без проліферації й атипії, із проліферацією без атипії, із проліферацією й атипією.

Оскільки в літературі ми не знайшли єдиної думки щодо класифікації лейкоплакії, то вважаємо можливим вживати термін «верукозна» (бородавчаста), який введений в обіг Е. І. Петровою (1959) і застосовується нині згідно з класифікацією ВООЗ при описі лейкоплакії БПЕ та іншої локалізації — губи, голосові зв'язки, гортань, що і дозволило нам звернутися до даної класифікації.

Усім пацієнткам перед лікуванням проводили загальноприйняте гінекологічне обстеження (аналіз скарг, збір гінекологічного анамнезу, огляд шийки матки у дзеркалах, бімануальне дослідження, бактеріоскопічне та бактеріологічне дослідження вагінального видільного та діагностичні тести на наявність супровідних інфекцій, переданих статевим шляхом — ІПСШ) і спеціальне обстеження: проста і розширена кольпоскопія, цитологічне дослідження мазків-відбитків із шийки матки і зскрібків цервікального каналу, гістологічне дослідження прицільно узятого біоптата шийки матки, вивчення мітотичного режиму за методом І. А. Алова і співавт. (1973) і проліферативної активності БПЕ з використанням моноклональних антитіл Ki-67 (DAKO, Данія), типування ВПЛ методом полімеразної ланцюгової реакції, визначення непрямого вірусного навантаження методом геномної ампліфікації Digene-тест.

Як джерело лазерного випромінювання використовували високоінтенсивний лазерний хірургічний апарат «Ліка-хірург» (Черкаси) з довжиною хвилі інфрачервоного діапазону 1470 нм, вихідна потужність променя сягала 10–15 Вт. Для радіохірургічного лікування застосовувався апарат «Фотек Е80М» (Єкатеринбург), в основі дії якого лежить широкосмуговий радіохвильовий сигнал спеціальної форми, одержаний шляхом підсумовування певним чином сигналів із частотами від 440 до 7,04 мГц, що дозволило нівелювати недоліки і виокремити переваги традиційної високочастотної та радіохвильової хірургії.

Ефективність лікування оцінювали на підставі даних простої та розширеної кольпоскопії, цитологічного дослідження мазків-відбитків з поверхні шийки матки і зскрібків цервікального каналу в динаміці через 1,5, 3, 6 міс. і через рік після лікування. На 5–6-й день менструального циклу хворим проводили лазерну і радіохвильову деструкцію ЛШМ. Лазерна деструкція шийки матки проведена 177 жінкам апаратом «Ліка-хірург» із довжиною хвилі інфрачервоного діапазону 1470 нм у безперервному безконтактному режимі з вихідною потужністю 10–15 Вт і діаметром плями 1–3 мм, середнє променеве навантаження становило 1500–2000 Дж. Радіохірургічне лікування проведено 23 пацієнткам апаратом «Фотек Е80М»: спеціальним електродом-петлею сікли конус у режимі «різання» в 1–2-й зонах з вершиною в нижній третині цервікального каналу; потім судини, що кровоточать, коагулювали кулястим електродом діаметром 5 мм у режимі «спрей» після попереднього місцевого знеболювання в чотирьох точках на вагінальній порції шийки матки на 12, 15, 18-ту, 21-шу годину місцевим анестетиком за стандартною методикою.





Потім у післяопераційному періоді 140 пацієнткам, у яких були виявлені високоонкогенні типи ВПЛ і високе вірусне навантаження, призначали додаткову протівірусну терапію препаратом системної дії «Панавір» у вигляді 0,004 % розчину дозою 5,0 мл через 24–36 год у кількості 5 внутрішньовенних ін'єкцій. Усім жінкам рекомендована антибактеріальна терапія препаратом сумамед по 500 мг один раз на день протягом 6 днів.

### Результати дослідження та їх обговорення

Вік пацієнок першої групи в середньому становив  $(36,15 \pm 0,20)$  року, пацієнок другої групи —  $(42,86 \pm 0,40)$  року. Верукозна лейкоплакія виявляється у жінок більш старшого віку, а проста форма частіше діагностується у пацієнок молодшого віку. Отже, середній вік жінок із ЛШМ відповідає пізньому репродуктивному періоду, що має важливе значення у діагностиці та виборі тактики лікування пацієнок.

У спеціально розроблених картах обстеження реєструвалися відомості про професійну зайнятість пацієнок, соціальний статус, шкідливі звички, особливості менструальної функції, сексуальний анамнез, перенесені раніше гінекологічні захворювання, включаючи патологію шийки матки та ІПСШ, екстрагенітальну патологію, інфекційні захворювання. Особлива увага була приділена вивченню репродуктивного анамнезу.

Загальновідомо, що нікотин добре проникає через слизові оболонки, виявляється у цервікальному секреті та є фактором ризику розвитку патології шийки матки і ЦІН [3]. Серед двох груп досліджуваних жінок інтенсивно палили 103, тобто значна частина жінок мала даний фактор ризику.

Середня тривалість менструальних кровотеч становила:  $(4,3 \pm 0,3)$  дня у першій групі;

$(4,6 \pm 0,7)$  дня — у другій і за групами достовірно не розрізнялася. Тривалість менструального циклу у групах:  $(29,2 \pm 1,5)$  дня — у першій групі;  $(28,4 \pm 1,4)$  дня — у другій групі ( $p > 1$ ). У другій групі було 40 жінок у менопаузі, тимчасом як у першій групі лише 10 пацієнок перебували в постменопаузальному періоді. Мабуть, постменопаузальна гіпоестрогенія й атрофічні зміни БПЕ шийки матки відіграють велику роль у розвитку патології шийки матки у цей період життя жінки [4]. Тканини шийки матки містять рецептори до естрогену, будова якого схожа з онкопротеїнами ВПЛ Е6, Е7. При нестачі естрогену онкопротеїни ВПЛ Е6, Е7 можуть бути розпізнані рецепторами БПЕ шийки матки, унаслідок чого запускається процес клітинної проліферації, що призводить до формування ЦІН і надалі до злоякісної трансформації епітелію шийки матки [5]. При вивченні менструальної функції достовірних відмінностей між групами не виявлено. Середній термін менархе становив  $(13,5 \pm 0,5)$  року в першій групі та  $(13,0 \pm 0,3)$  року — у другій групі.

При аналізі сексуального анамнезу в досліджуваних групах пацієнок були встановлені такі дані: у першій групі середній вік початку статевого життя становив  $(17,6 \pm 1,8)$  року, а у другій —  $(15,9 \pm 1,2)$  року. Середня кількість статевих партнерів на одну жінку у групах становила  $2,6 \pm 0,5$  і  $3,9 \pm 0,3$  відповідно. Ранній початок статевого життя і велика кількість статевих партнерів розглядаються як фактори ризику розвитку ЦІН і, ймовірно, ЛШМ, оскільки епітелій недостатньо добре сформований, перехідна зона розташовується на ектоцервіксі і більш схильна до екзогенних впливів. Аналізуючи наведені дані, ми з'ясували, що 97 жінок з обох груп не використовували контрацепцію взагалі, пояснюючи це нерегу-

лярним статевим життям, бажанням завагітніти або відсутністю постійного статевого партнера, а також відсутністю менструації та неможливістю завагітніти. При обстеженні пацієнок ми звернули увагу на частоту перенесених сексуально-трансмисивних захворювань. Із 164 жінок першої групи — 52 та з 36 жінок другої групи — 32 мали в анамнезі ІПСШ. У пацієнок обох груп із ЛШМ найчастіше виявлялися такі інфекції, як бактеріальний вагіноз (58,2 і 77,8 % відповідно) та кандидоз (28,3 і 44,4 % відповідно). Це дозволило нам зробити висновок про те, що верукозна ЛШМ формується частіше у жінок із порушенням мікробіоценозу піхви і зниженням імунітету. Також в анамнезі були трихомоніаз, хламідіоз, уреоплазмоз, мікоплазмоз, генітальний герпес, цитомегаловірусна інфекція і папіломавірусна інфекція, які відзначалися в пацієнок першої групи — у 23,9 % випадків і 22,2 % випадків — у другій групі. Крім того, 10 пацієнок із верукозною лейкоплакією перенесли гонорею.

Вивчення репродуктивного анамнезу дозволило зробити висновок, що велика кількість пологів і абортів є чинниками, що сприяють розвитку ЛШМ, особливо верукозної її форми. Можливо, важливу роль тут відіграють травми шийки матки, що виникають під час пологів і абортів, які розглядаються як фактор ризику розвитку ЦІН.

Особливо ретельно ми підходили до вивчення даних анамнезу щодо патології шийки матки, яка була раніше, і методів її лікування. Так, у першій групі у 89, а в другій групі у 15 жінок раніше була виявлена якась патологія шийки матки, з приводу чого проводилося різне лікування. Оскільки ці дані були в основному отримані зі слів пацієнок і у нас не було можливості вивчити морфологічну картину перенесених захворювань, ми визнали



некоректним аналізувати частоту різних форм патології шийки матки, тому що жінки могли неправильно їх трактувати. Найчастіше це були: псевдоерозія, кістозно розширені залози, лейкоплакія, ВПЛ-ураження шийки матки, ЦІН 1–3. Важко сказати, якою була форма ектопії шийки матки, що позиціонується багатьма фахівцями як псевдоерозія. Якщо це була проста природжена ектопія, то це є гістофізіологічною нормою і проведення терапії (деструкції) не потребує. Тоді, ймовірно, прості лейкоплакії найчастіше є наслідком неадекватного лікування патології шийки матки.

Нами проаналізована частота застосування різних методів лікування патології шийки матки, що зафіксовано в анамнезі досліджуваних жінок із ЛШМ. Згідно з отриманими даними, істотні відмінності між порівнюваними групами не виявлені, але привертає увагу те, що в 43,3 % випадків у першій групі і 41,7 % випадків у другій групі шийка матки зазнала деструктивного впливу. Ці дані підтверджують припущення про те, що формуванню ЛШМ сприяють застосовані раніше різні методи впливу на шийку матки. Отже, найчастіше ЛШМ, особливо її верукозна форма, виникає у жінок пізнього репродуктивного і перименопаузального віку, нижчого соціального рівня, що мали ранній статевий дебют і велику кількість статевих партнерів, які нехтують бар'єрними методами контрацепції, що перенесли ІПСШ, багато народжували, з порушеннями менструальної функції, які палять і мали в анамнезі впливи на шийку матки з приводу попередніх патологічних процесів.

Розроблена диференційована тактика лікування включала: методи деструктивного впливу на шийку матки — лазерна і радіохвильова коагуляція, імунотропна й антибактеріальна терапія. У першій групі

у 100 % була проведена лазерна коагуляція шийки матки, у другій групі — у 36 % лазерна і в 64 % — радіохвильова коагуляція. Імунотропну терапію одержали 10,4 % жінок першої групи і 100 % — другої групи залежно від результатів лабораторної діагностики на ВПЛ. Антибактеріальна терапія була рекомендована в 100 % випадків у першій і другій групах. Згідно з наведеними даними, ефективність розроблених схем лікування різних форм ЛШМ становила у першій групі — 97,1 %, у другій групі — 94,4 %.

### Висновки

1. Клініко-морфологічними критеріями простої ЛШМ є результати кольпоскопії: атипічний епітелій у вигляді лейкоплакії, мозаїки та пунктації; морфологічного дослідження: кератоз, койлоцитоз і ЦІН легкого ступеня, низькі показники мітотичної та проліферативної активності та в асоціації з ВПЛ високого і середнього канцерогенного ризику клінічно значущі вірусні навантаження.

2. Для верукозної форми ЛШМ характерна наявність грубої лейкоплакії, ацедобілого епітелію, судин, атипій при розширеній кольпоскопії, морфологічно вираженого акантозу, гіперкератозу, койлоцитозу і в 50 % випадків — явищ ЦІН різного ступеня, асоціація з ВПЛ високого онкологічного ризику в клінічно значущих і високих вірусних навантаженнях.

3. Включення в комплексну діагностику різних форм ЛШМ методів визначення морфологічних показників проліферативної активності та кількісних показників вірусного навантаження дозволяє визначити онкологічний потенціал форми лейкоплакії. Найбільший ризик розвитку онкологічної патології шийки матки має верукозна форма лейкоплакії.

4. Розроблена диференційована тактика ведення па-

цієнток різного віку залежно від форми лейкоплакії, що поєднує методи деструктивної дії та противірусної терапії, дозволила досягти високої ефективності лікування (при простій формі — 97,1 %, при верукозній — 94,4 %).

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Цитологічний скринінг в діагностиці фонових, передпухлинних захворювань та раку шийки матки* / Н. В. Собко, С. В. Мініна, Г. В. Кардакова [та ін.] // Злоякісні новоутворення. — К. : Телеоптик, 2012. — С. 46–47.

2. Хансон К. П. Современные представления о канцерогенезе рака шейки матки / К. П. Хансон, Е. Н. Имянитов // Практическая онкология. — 2012. — Т. 3, № 3. — С. 145–155.

3. Прилепская В. Н. Эктопии и эрозии шейки матки / В. Н. Прилепская, Е. Б. Рудакова, А. В. Кононов. — М. : МЕДпресс-информ, 2012. — 176 с.

4. Прилепская В. Н. Патология шейки матки. Диагностические возможности цитологического скрининга / В. Н. Прилепская, Н. И. Кондриков, Т. Н. Бебнева // Акушерство и гинекология. — 2009. — № 3. — С. 45–50.

5. Петрова А. С. Цитологические исследования в клинической лабораторной диагностике / А. С. Петрова, Н. Ю. Полонская, В. Н. Богатырев // Клиническая лабораторная аналитика; под. ред. В. В. Меньшикова. — М. : Лабинформ, 2009. — С. 99–196.

### REFERENCES

1. Skobko N.V., Minina S.V., Kardakova G.V. et al. Cytologic screening in background, precancer diseases and cancer of the cervix. Zloayakisni novoutvorennya. Kyiv, Teleoptic, 2012. P. 46–47.

2. Khanson K.P., Imyanitev Ye.N. Modern views on cervical cancerogenesis. *Prakticheskaya onkologiya* 2012; 3(3): 145–155.

3. Prilepskaya V.N., Rudakova Ye.B., Kononov A.V. Cervical ectopia and erosion. Moscow, Medpress-inform, 2012. 176 p.

4. Prilepskaya V.N., Kondrikov N. I., Bebneva T.N. Diagnostic possibilities of cytologic screening. *Akusherstvo i ginekologiya* 2009; 3: 45–50.

5. Petrova A.S., Polonskaya N.Yu., Bogatyryov V.N. Cytologic investigation in clinical laboratory diagnostics. Ed. By Menshikov V. V. *Klinicheskaya laboratornaya analitika*. Moscow, Labinform, 2009. P. 99–196.

Надійшла 19.05.2014



О. О. Степанов, Т. Е. Зерова-Любимова, С. В. Денисенко

# АНАЛІЗ ХРОМОСОМНОЇ ПАТОЛОГІЇ У ПЛОДА ЗА ДОПОМОГОЮ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЇ ГІБРИДИЗАЦІЇ *IN SITU* НА ІНТЕРФАЗНИХ ЯДРАХ — ОБМЕЖЕННЯ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ

Клініка проблем планування сім'ї, Київ, Україна

УДК 575.191:618.33-056.715/.717-07

А. А. Степанов, Т. Э. Зерова-Любимова, С. В. Денисенко

## АНАЛИЗ ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ У ПЛОДА С ПОМОЩЬЮ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ *IN SITU* НА ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДРАХ — ОГРАНИЧЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Клиника проблем планирования семьи, Киев, Украина

Проанализирована структура хромосомной патологии у плода по результатам цитогенетического анализа клеток биоптата ворсин хориона, амниотической жидкости, проведено сравнение результатов выявления хромосомной патологии стандартными цитогенетическими и молекулярно-цитогенетическими методами, дана оценка информативности флюорисцентной гибридизации *in situ* на интерфазных ядрах.

**Ключевые слова:** пренатальная диагностика, хромосомная патология, флюоресцентная гибридизация *in situ*, интерфазные ядра.

UDC 575.191:618.33-056.715/.717-07

O. O. Stepanov, T. E. Zerova-Lyubimova, S. V. Denysenko

## PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOME PATHOLOGY ON INTERPHASE CELLS WITH FLUORESCENCE HYBRIDIZATION *IN SITU* — METHOD'S LIMITATION

Clinic of Family Planning Problems, Kyiv, Ukraine

**Introduction.** Molecular-cytogenetic and molecular methods are widely used in prenatal diagnosis for rapid detection of genomic mutations (trisomy 13, 18, 21). Aneuploidy screening is important for 35 year-old women. It is well known that the risk to born a child with chromosome pathology is higher among older mothers. The application of rapid aneuploidy testing by molecular and molecular-genetic methods as a stand-alone approach in prenatal diagnosis is greatly debated. The level of false-positive and false-negative results is 13.2–30%.

**Objectives.** To assess the clinical utility of molecular-cytogenetic methods as an express method in detecting chromosomal pathology in fetuses.

**The aim** of this study is to objectively evaluate FISH in prenatal diagnosis of chromosome pathology as stand-alone approach to women older than 35 years old.

**Methods.** Classical cytogenetic and molecular-cytogenetic methods (FISH) on metaphases and interphase cells.

**Results and conclusions.** We retrospectively reviewed the results of cytogenetic conventional investigation of 577 fetuses. CVS was performed specifically for advanced maternal age (35 years old). 30 abnormal karyotypes were found. Among them there were 21 fetuses with aneuploidy, 7 — with structural rearrangement and 2 fetuses — with marker chromosome.

Additional FISH investigation was used for 12 cases: in mosaic variants — 9 cases, to identify marker chromosome — 2 cases, to detect cryptic microdeletion — 1 case.

According to our results, FISH is highly informative test for identification of chromosomal mutation (marker chromosome, microdeletion, chromosomal rearrangements) and for identification of percent of mosaic clones.

However, it should be recognized that the rapid test for aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X and Y by FISH provides only a limited amount of information about the fetus's karyotype. Retrospective analysis demonstrated that the fast FISH fails to detect 30 to 45% of the fetal chromosomal anomalies. The risk to receive false-negative results is near 48.4%, as our results demonstrate.

**Key words:** prenatal diagnostics, chromosome pathology, FISH, interphase cells.

### Вступ

Наявність хромосомної патології у людини на пренатальному рівні встановлюється за допомогою цитогенетичних, молекулярно-цитогенетичних і молекулярних методів. У біль-

шості випадків аналіз проводять за допомогою стандартного цитогенетичного дослідження у першому-другому триместрі вагітності біоптату ворсин хоріона та клітин амніотичної рідини. Молекулярно-цитогенетичні та молекулярні

методи пропонують застосовувати як експрес-аналіз для виявлення найбільш поширених геномних мутацій у плода (трисомія 13, 18, 21) [2–4]. Обґрунтуванням для проведення експрес-діагностики подружнім парам старшої вікової катего-





рії є встановлений зв'язок між віком матері та ризиком народження дитини з хромосомною патологією. Проте доцільність широкого впровадження експрес-методу дискутується. Випадки хибнопозитивних і хибнонегативних результатів становлять від 13,2 до 30 % [1; 2].

**Мета** нашого дослідження — оцінити ефективність застосування молекулярно-цитогенетичних методів як експрес-аналізу для виявлення й ідентифікації хромосомної патології у плодів жінок старшої вікової категорії.

### Матеріали та методи дослідження

Ретроспективний аналіз результатів цитогенетичного дослідження каріотипу 577 плодів був проведений для визначення відсотка виявлення генетичних і хромосомних мутацій у плодів вагітних жінок старшої вікової категорії. Середній вік жінок, яким проводили інвазивну пренатальну діагности-

ку, становив 37,8 року. Згідно з вимогами Комітету з біоетики НМАПО ім. П. Л. Шупика, була отримана інформаційна згода у пацієнтів на проведення аналізу.

Для цитогенетичного аналізу використовували матеріал біоптату ворсин хоріона й амніотичну рідину. Алгоритм проведення аналізу представлений на рис. 1. Препарати з клітин біоптату ворсин хоріона готували за загальноприйнятими методиками із власною модифікацією. У кожному випадку отримували препарати після безпосередньої фіксації клітин одразу після біопсії ворсин хоріона і через 24 год культивування клітин у культуральному середовищі Amnio Max II. Усього для кожного випадку аналізували по 30–40 метафаз.

Клітини амніотичної рідини культивували за загальноприйнятим методом [8]. Аналізували 15–20 клітин від не менше ніж двох незалежних пер-

винних культур (двох флаконів).

Препарати клітин амніотичної рідини та біоптату ворсин хоріона забарвлювали GTG-методом. Допоміжні методи забарвлення (QFQ та CBG) застосовували за необхідності для уточнення розміру гетерохроматинових блоків.

Флюоресцентну гібридизацію *in situ* (FISH) проводили за протоколом, рекомендованим виробником ДНК-зондів. Залежно від показань застосовували ДНК-зонди на центромерні ділянки хромосом (CEP), локус-специфічні (LSI), багатокольорову FISH — multi-FISH (Vysis, Abbott Molecular Inc, США). При виявленні мозаїцизму для уточнення співвідношення клонів клітин із хромосомною патологією аналізували по 200 інтерфазних ядер без накладань.

### Результати дослідження та їх обговорення

Стандартний цитогенетичний аналіз біоптату ворсин хо-

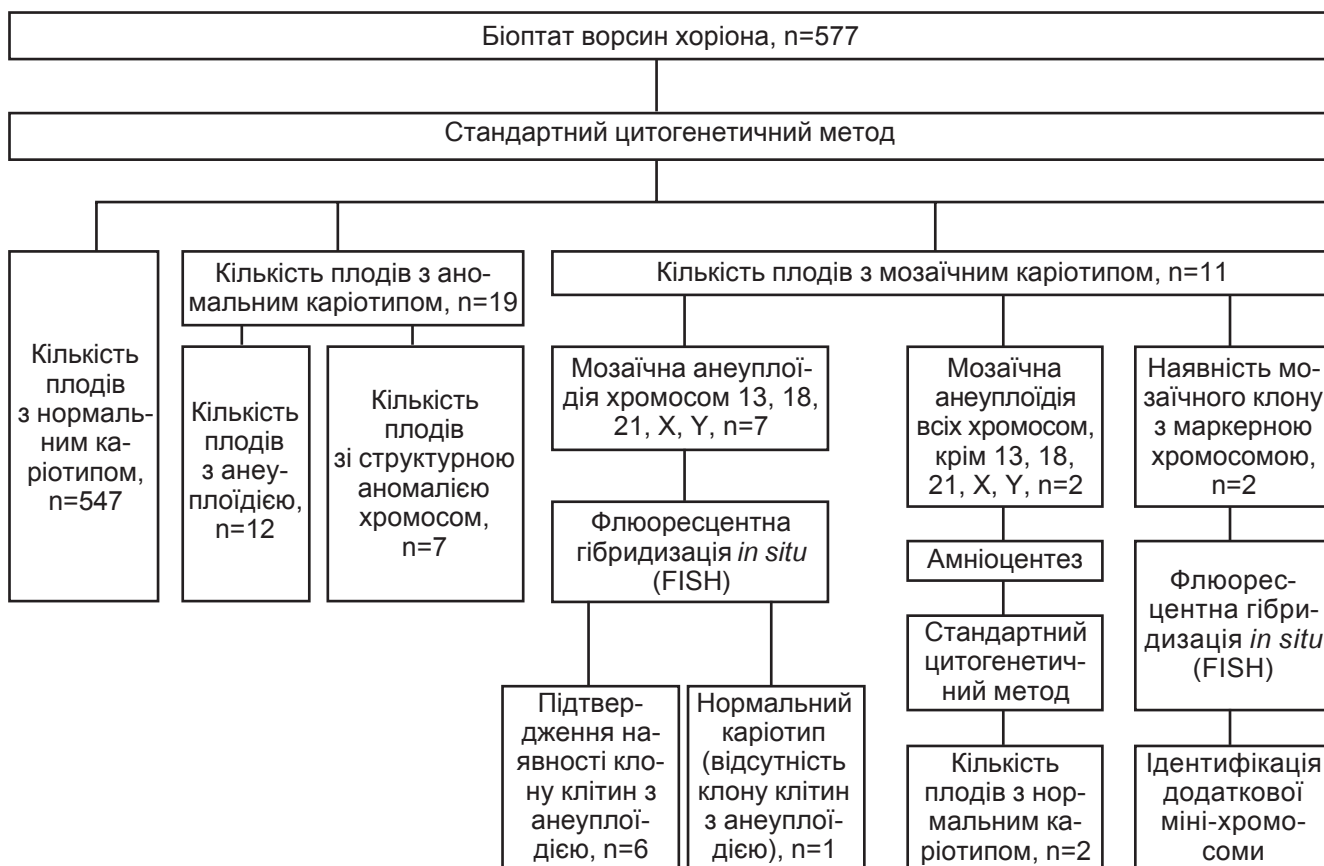


Рис. 1. Алгоритм проведення дослідження



ріона 577 плодів виявив хромосомну патологію в 30 випадках, що становило 5,2 %. Переважали геномні мутації — анеуплоїдії автосом і гоносом у повній та мозаїчній формах (21 випадок, що становить 70 % усієї виявленої патології). Хромосомні мутації (транслокації, делеції) були виявлені в 7 (23,3 %) випадках. Додаткові маркерні хромосоми траплялися з частотою 2 (6,7 %) випадки.

Серед геномних мутацій переважали анеуплоїдії гоносом (повна та мозаїчна форми, 10 випадків) і трисомія хромосоми 21 (повна та мозаїчна форми, 4 випадки). Інші геномні мутації були визначені як тетраплоїдія, трисомія хромосоми 8, трисомія хромосоми 2 (мозаїчна форма) і трисомія хромосоми 3 (мозаїчна форма).

Усі випадки мозаїчної форми анеуплоїдії хромосом 13, 21, X, Y були проаналізовані додатково молекулярно-цитогенетичним методом FISH (див. рис. 1). Залежно від результату цитогенетичного аналізу використовували різні ДНК-зонди. При виявленні мозаїцизму гоносом були задіяні ДНК-зонди на центромерні ділянки хромосоми X та Y (СЕРХ, СЕРУ). Аналіз мозаїцизму трисомії хромосом 13 та 21 на інтерфазних ядрах проводили з використанням ДНК-зондів на унікальні послідовності хромосом: для хромосоми 13 ділянка 13q14.2 і для хромосоми 21 — 21q22.13 (для кожної ділянки по кілька маркерів).

Результати молекулярно-цитогенетичного дослідження подано у табл. 1. Наявність мозаїчного клону було підтверджено в чотирьох з п'яти випадків. За допомогою FISH у випадках 1, 2, 6, 7 було підтверджено наявність клону клітин з каріотипом, відмінним від нормального, а також визначено співвідношення нормальних й анеуплоїдних клітин. Подальше медико-генетичне консуль-

тування родини базувалося на результатах молекулярно-цитогенетичного аналізу. У випадку 5 додаткове молекулярно-цитогенетичне дослідження інтерфазних ядер, отриманих з матеріалу біоптату ворсин хоріона, не підтвердило наявності клону клітин з каріотипом 45,X, який був виявлений стандартним цитогенетичним методом. Подальший алгоритм дій у даному випадку — цитогенетичний і молекулярно-цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини, який показав нормальний жіночий каріотип (див. табл. 1).

Окрім найбільш поширених анеуплоїдій та їх мозаїчних варіантів (анеуплоїдії хромосом 13, 18, 21, X та Y), було виявлено мозаїчну форму трисомії хромосоми 2 (випадок 3) і мозаїчну форму трисомії хромосоми 3 (випадок 4; див. табл. 1). Обидва випадки були досліджені двома етапами для визначення співвідношення клонів клітин (див. рис. 1). Згідно з алгоритмом, обидва випадки були досліджені стандартним цитогенетичним методом на клітинах біоптату ворсин хоріона (прямі препарати та препарати, отримані після культивування). Другий етап включав проведення амніоцентезу навколоплідної рідини на 18-му тижні вагітності й аналіз клітин, отриманих після культивування амніотичної рідини. Цитогенетичний аналіз культури клітин з амніотичної рідини не виявив мозаїцизму — каріотип плода у випадку 3 — 46,XX, у випадку 4 — 46,XY.

Серед хромосомних структурних аномалій, які були виявлені стандартним цитогенетичним методом, найбільш поширеними виявилися делеції та Робертсонівські транслокації. Молекулярно-цитогенетичне дослідження було проведене при визначенні інтерстиціальної делеції довгого плеча хромосоми 22.

Наявність ультразвукових маркерів при нормальному ка-

ріотипі визначила подальший перебіг лабораторного дослідження. Так, проведення ультразвукового обстеження на 23-му тижні вагітності зафіксувало комбіновану ваду серця у плода (дефект міжшлуночкової перегородки, гіпоплазія правого шлуночка, атрезія трикуспідального клапана, гіпоплазія стовбура легеневої артерії). Стандартний цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини показав нормальний каріотип (46,XX). Оскільки відомо, що вади серця пов'язані з мікроделецією хромосоми 22, було вирішено провести додаткове молекулярно-цитогенетичне дослідження із застосуванням локус-специфічного ДНК-зонда на хромосому 22. Аналіз хромосом за допомогою FISH із застосуванням ДНК-зонда LSI DiGeorge locus Spectrum Orange/LSI ARSA Spectrum Green виявив делецію ділянки 11.2 довгого плеча хромосоми 22 (22q11.2) в усіх проаналізованих метафазах та інтерфазних ядрах. Подальше медико-генетичне консультування родини базувалося на результатах молекулярно-цитогенетичного аналізу.

Ідентифікація додаткових маркерних хромосом також потребувала додаткового молекулярно-цитогенетичного аналізу. У випадку 10 були використані центромерні ДНК-зонди на хромосоми X і Y; додаткова міні-хромосома походила від хромосоми X (див. табл. 1) [3]. У випадку 11 застосували багатокольорову FISH, під час якої кожна пара хромосом забарвлюється в індивідуальний колір. Маркерна хромосома була ідентифікована як дериват хромосоми 12 (див. табл. 1) [4].

Отже, молекулярно-цитогенетичне дослідження проводилось у разі виявлення мозаїцизму автосом або гоносом (9 випадків), за наявності в каріотипі додаткової міні-хромосоми (2 випадки), при підозрі на мікроделецію (1 випадок). Із 577



## Результати цитогенетичного і молекулярно-цитогенетичного досліджень випадків мозаїцизму

Геномні мутації	Стандартний цитогенетичний аналіз біоптату ворсин хоріона		Молекулярно-цитогенетичний аналіз біоптату ворсин хоріона	Стандартний цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини	Молекулярно-цитогенетичний аналіз клітин амніотичної рідини
	Результат цитогенетичного аналізу біоптату ворсин хоріона (прямий метод)	Результат цитогенетичного аналізу біоптату ворсин хоріона (після культивування клітин)	Каріотип плода після FISH на інтерфазних ядрах клітин біоптату ворсин хоріона	Результат цитогенетичного аналізу амніоцитів	Каріотип плода після FISH на метафазах (інтерфазних ядрах) клітин амніотичної рідини
1. Мозаїцизм трисомії хромосоми 21	47,XX,+21[1]/46,XX[16]	47,XX,+21[3]/46,XX[19]	mos nuc ish21 (D21S27x3) [33]/ nuc ish21 (D21S27x2)[147]	47,XX,+21[8]/46,XX[42]	mos nuc ish21 (D21S27x3)[43]/nuc ish21 (D21S27x2)[167]
2. Мозаїцизм трисомії хромосоми 13	47,XY,+13[1]/46,XY[15]	47,XY,+13[2]/46,XY[21]	mos nuc ish13 (D13S915x3) [28]/nuc ish21 (D13S915x2) [172]	47,XY,+13[4]/46,XY[46]	mos nuc ish13 (D13S915x3)[37]/nuc ish21 (D13S915x2)[163]
3. Мозаїцизм трисомії хромосоми 2	47,XX,+2[1]/46,XX[14]	46,XX	—	46,XX	—
4. Мозаїцизм трисомії хромосоми 3	47,XY,+3[1]/46,XY[17]	46,XY	—	46,XY	—
5. Мозаїцизм гоносом	45,X[2]/46,XX[17]	46,XX	nuc ishXcen (DXZx2)[200]	46,XX	nuc ishXcen (DXZx2)[200]
6. Мозаїцизм гоносом	45,X[1]/46,XX[15]	45,X[3]/46,XX[22]	mos nuc ishXcen (DXZ1x1)[64]/nuc ishXcen (DXZx3)[136]/	—	—
7. Мозаїцизм гоносом	47,XXX[2]/46,XX[12]	47,XXX[3]/46,XX[21]	mos nuc ishXcen (DXZ1x1)[18]/nuc ishXcen (DXZx3)[22]/nuc ishXcen (DXZx2)[160]	—	—
8. Мозаїцизм гоносом	47,XXX[1]/46,XX[14]	47,XXX[1]/46,XX[19]	mos nuc ishXcen (DXZx3)[26]/nuc ishXcen (DXZx2)[174]	—	—
9. Мозаїцизм гоносом	47,XXY[1]/46,XY[15]	47,XXY[3]/46,XY[21]	mos nuc ishXcen (DXZ1x2)[61]/nuc ishXcen (DXZx1)[139]	—	—
10. Наявність мозаїчного клону клітин з додатковою маркерною хромосомою	46,XX,+mar[5]/45,X[17]	46,X,+mar[4]/46,XX[19]	mos nuc ishXcen (DXZ1x1)[28]/nuc ishXcen (DXZx2)[172]	—	—
11. Наявність мозаїчного клону клітин з додатковою маркерною хромосомою	—	—	—	47,XY,+mar[5]/46,XY[42]	ish der (12)(wcp12+) [9]/46,XY[197]





проаналізованих стандартним цитогенетичним методом плодів 12 (2,1 %) потребували додаткового молекулярно-цитогенетичного дослідження. В усіх випадках FISH застосовували з уточнюючою метою, при цьому вибір ДНК-зондів базувався на результатах стандартного цитогенетичного аналізу та даних ультразвукового дослідження. Таким чином, молекулярно-цитогенетичний метод не замінював стандартний цитогенетичний аналіз, а доповнював його.

Питання про доцільність використання молекулярно-цитогенетичних або молекулярних методів як експрес-методу виявлення хромосомної патології на пренатальному рівні порушується в багатьох статтях [1; 5]. Випадки хибнопозитивних і хибнонегативних результатів, за оцінками різних дослідників, становлять від 13,2 до 30 % [1; 2]. У літературі накопичилося достатньо випадків із практики хибнонегативних результатів, отриманих за допомогою FISH/QF-PCR на інтерфазних ядрах [2; 6; 7].

Ретроспективний аналіз хромосомної патології у плодів, яка була виявлена цитогенетичними та молекулярно-цитогенетичними методами в нашому дослідженні, показав, що використання виключно FISH на інтерфазних ядрах з альфойдними ДНК-зондами на хромосоми 13, 18, 21, X та Y змогло б виявити 51,6 % хромосомної патології, а відповідно 48,4 % хромосомної патології були б прогаєні. Наші дані узгоджуються з думкою інших авторів: FISH на інтерфазних ядрах не виявляє збалансовані та незбалансовані структурні перебудови, інші анеуплоїдії, на які ДНК-зонди не використовували, мікроструктурні перебудови (делеції, дуплікації), однобатьківську дисомію [1; 2].

Розв'язати цю проблему намагаються за допомогою нових молекулярно-цитогенетичних

методів, використання яких знизило б відсоток хибнопозитивних і негативних результатів. Мова йде про молекулярне каріотипування за допомогою порівняльної геномної гібридизації (CGH), порівняльної геномної гібридизації на мікročіпах (arrayCGH), спільної ампліфікації всіх елементів рекомбінантної конструкції (MLPA). Ці методи тільки починають впроваджуватися в практику, оскільки мають високу собівартість [8].

## Висновки

Ретроспективний аналіз результатів цитогенетичного дослідження каріотипу плодів жінок старшої вікової категорії дозволяє спростувати рекомендації щодо використання FISH для експрес-аналізу як альтернативи пренатальній діагностиці хромосомної патології стандартними цитогенетичними методами. Лабораторії, у яких проводять пренатальну діагностику тільки експрес-аналізом, ризикують отримати хибнонегативні результати, за нашими даними, до 48,4 % випадків.

Застосування FISH на найбільш поширені геномні мутації на інтерфазних ядрах є суттєвим доповненням до каріотипування у разі високого ризику, проте метод не замінює цитогенетичний аналіз хромосом.

Застосовувати FISH необхідно виключно за наявності показань: для ідентифікації хромосомної мутації (при виявленні маркерної хромосоми, підозрі на мікроструктурну перебудову; для уточнення точок розриву при хромосомних перебудовах); при виявленні мозаїчного клону клітин з анеуплоїдією.

Аналіз мозаїцизму методом FISH має низку переваг: дозволяє проводити дослідження на більшому обсязі біологічного матеріалу; має високу інформативну цінність — визначає відсоток клітин з аномальним каріотипом, в окре-

мих випадках виявляє кілька клонів клітин або спростовує попередній висновок. У нашому дослідженні мозаїчних варіантів застосування FISH дозволило визначити відсоток мозаїчного клону, виявити додатковий клон клітин і в одному випадку — спростувати наявність мозаїцизму.

Таким чином, наше дослідження не підтримує точку зору про можливість застосування виключно FISH на інтерфазних ядрах як альтернативи пренатальній діагностиці хромосомної патології стандартними цитогенетичними методами.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Rapid aneuploidy screening with fluorescence in-situ hybridization: is it a sufficiently robust stand-alone test for prenatal diagnosis?* / A. S. T. Lim, T. H. Lim, M. M. Hess [et al.] // *Hong Kong Med. J.* – 2010. – N 16. – P. 427–433.
2. *Rapid aneuploidy testing (knowing less) versus traditional karyotyping (knowing more) for advanced maternal age: what would be missed, who should decide?* / W. C. Leung, E. T. Lau, W. L. Lau [et al.] // *Hong Kong Med. J.* – 2008. – N 14. – P. 6–13.
3. *Маркерные хромосомы в пренатальной диагностике — тактика идентификации* / А. А. Степанов, Т. Э. Зерова-Любимова, С. В. Денисенко, Н. Г. Горovenko // *Проблеми спадкової та мультифакторної патології: матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю: Київ, 3–4 квітня 2012 р.* – К., 2012. – С. 103.
4. *Идентификация маркерной хромосомы с помощью MFISH у плода с омфалоцеле* / С. В. Денисенко, А. С. Дарий, Л. Л. Фашук, Т. Э. Зерова-Любимова // *Современные технологии в педиатрии и детской хирургии: материалы 8-го Рос. конгр.:* Москва, 19–21 октября 2010 г. – М., 2010. – С. 91–92.
5. *Correlation of abnormal rapid FISH and chromosome results from amniocytes for prenatal diagnosis* / H. E. Wyandt, V. S. Tonk, X. L. Huang [et al.] // *Fetal. Diagn. Ther.* – 2006. – N 21. – P. 235–240.
6. *Complete discrepancy between QF-PCR analysis of uncultured villi and karyotyping of cultured cells in the prenatal diagnosis of trisomy 21 in three CVS* / J. J. Waters, K. Mann, L. Grimsley [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2007. – N 27. – P. 332–339.
7. *Collin A. False-positive prenatal diagnosis of trisomy 18 by interphase*



FISH: hybridization of chromosome 18 alpha-satellite probe (D18Z1) to chromosome 2 / A. Collin, P. Sladkevicius, M. Soller // *Prenat. Dian.* – 2009. – N 29. – P. 1279–1281.

8. Additional informaton form comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis / S. C. Hillman, S. Pretlove, A. Coomarasamy [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2011. – N 37. – P. 6–14.

#### REFERENCES

1. Lim A.S.T., Lim T.H., Hess M.M. Rapid aneuploidy screening with fluorescence in-situ hybridization: is it a sufficiently robust stand-alone test for prenatal diagnosis? *Hong Kong Med. J.* 2010; 16 (6): 427-433.

2. Leung W.C., Lau E.T., Lau W.L., Tang R., Wong S.F., Lau T.K., Tse K.T., Wong S.F., To W.K., Ng L.K., Lao T.T., Tang M.H. Rapid aneuploidy testing (knowing less) versus traditional karyotyping (knowing more) for ad-

vanced maternal age: what would be missed, who should decide? *Hong Kong Med. J.* 2008; 14 (1): 6-13.

3. Stepanov A.A., Zerova-Lyubimova T.E., Denisenko S.V., Gorovenko N.G. Marker chromosomes in prenatal diagnostics — tactics of identification. *Problemi spadkovoi ta multifaktorial'noiipatologii: materialy naukovopraktychnoi konferencii* (Problems of hereditary and multifactorial pathology: Proceedings of International Conference) Kyiv: NMAPO, 2012, p. 103.

4. Denisenko S.V., Dariy A.S., Faschuk L.L., Zerova-Lyubimova T.E. Identification of marker chromosome using MFISH in a fetus with omphalocele, *Sovremennie tehnologii v pediatrii i detsloy hirurgii: materialy VIII Rossiyskogo kongressa* (Contemporary technologies in pediatrics and pediatric surgery: Proceedings of Russian congress) Moscow, 9–21 Oct., 2010, p. 91-92.

5. Wyandt H.E., Tonk V.S., Huang X.L., Evans A.T., Milunsky J.M., Milunsky A. Correlation of abnormal rapid

FISH and chromosome results from amniocytes for prenatal diagnosis. *Fetal. Diagn. Ther.* 2006; 21 (2): 235-240.

6. Waters J.J., Mann K., Grimsley L., Ogilvie C.M., Donaghue C., Staples L., Hills A., Adams T., Wilson C. Complete discrepancy between QF-PCR analysis of uncultured villi and karyotyping of cultured cells in the prenatal diagnosis of trisomy 21 in three CVS. *Prenat. Diagn.* 2007; 27 (4): 332-339.

7. Collin A., Sladkevicius P., Soller M. False-positive prenatal diagnosis of trisomy 18 by interphase FISH: hybridization of chromosome 18 alpha-satellite probe (D18Z1) to chromosome. *Prenat. Diagn.* 2009; 29 (13): 1279-1281.

8. Hillman S.C., Pretlove S., Coomarasamy A., McMullan D.J., Davison E.V., Maher E.R., Kilby M.D. Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2011; 37 (1): 6-14.

Надійшла 17.04.2014

УДК 617.753.2

Н. А. Ульянова, О. О. Сметюк, Ю. І. Бажора

## ЧАСТОТА ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ *GSTM1* І *GSTT1* У ХВОРИХ НА МІОПІЮ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 617.753.2

Н. А. Ульянова, Е. А. Сметюк, Ю. И. Бажора

### ЧАСТОТА ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *GSTM1* И *GSTT1* У БОЛЬНЫХ С МИОПИЕЙ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Миопия — мультифакториальное заболевание, одним из ключевых звеньев патогенеза которого является оксидативный стресс. Целью работы было исследование полиморфизма генов глутатион-S-трансферазы у больных миопией с разной скоростью прогрессирования заболевания. Обследовано 47 больных миопией слабой, средней и высокой степени. Полиморфный участок *GSTM1*, *GSTT1* амплифицировали с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции. Установлено, что наличие делеции генов *GSTT1* и *GSTM1* не является фактором предрасположенности к возникновению миопии. Наличие делеции гена *GSTM1* может быть фактором, повышающим риск прогрессирования миопии. Делеция гена *GSTT1* не влияет на скорость прогрессирования заболевания.

**Ключевые слова:** миопия, глутатион-S-трансфераза, полиморфизм генов.

UDC 617.753.2

N. A. Ulyanova, O. O. Smetyuk, Yu. I. Bazhora

### FREQUENCY OF POLYMORPHIC GENE VARIANTS *GSTM1* AND *GSTT1* IN PATIENTS WITH MYOPIA

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

**Introduction.** Myopia is a multifactorial disease. One from pathogenesis key of myopia is oxidative stress. It is lack of information on gene polymorphism glutathione-S-transferase in patients with myopia.

**Purpose.** To study glutathione-S-transferase gene polymorphism in patients with myopia with different rates of disease progression.

**Materials and methods.** The study involved 47 patients with myopia of low, mild and high degree. Determination of the polymorphic alleles of the gene glutathione-S-transferases M1 and T1 was performed by isolating genomic DNA from leukocytes. Polymorphic area *GSTM1*, *GSTT1* amplified by multiplex polymerase chain reaction.



**Results and discussion.** We found that among patients with myopia frequency distribution of genotypes *GSTM1* and *GSTT1* statistically is not significantly different from that of the donor. In turn, patients with myopia *GSTM1* null genotype are met in 53.2% of cases. In the group of myopia null *GSTT1* genotype is met in 10.6% of cases. As a result of the studies it was detected that in patients with a combination of genotypes: lack of gene deletion *GSTT1* and *GSTM1* gene deletions there are more patients with progressive myopia statistically proved. Groups of patients with *GSTT1+* genotype and *GSTT1-* are of the same number as patients with progressive myopia ( $p=0.3561$ ). In turn, the group of patients with genotype *GSTM1-* has more cases of progressive myopia ( $p=0.0012$ ) statistically proved.

**Conclusion.** The presence of deletions of genes *GSTT1* and *GSTM1* is not a factor of susceptibility to myopia occurrence. However, the presence of *GSTM1* gene deletion may be a factor that increases the risk of myopia progression, *GSTT1* gene deletion does not affect the rate of disease progression.

**Key words:** myopia, glutathione-S-transferase, genes polymorphisms.

## Вступ

Міопія, на відміну від спадкових захворювань очей, належить до групи захворювань зі спадковою схильністю. Більшість авторів відзначає полігенний характер такої схильності, при якій неускладнена міопія може передаватися як за рецесивним, так і за домінантним типом [1]. Нині відомо не менше 10 локусів, що мають відношення до детермінації міопії високого ступеня, хоча поки не встановлені гени, мутації яких є безпосередньою причиною захворювання [2]. При цьому деякі автори відзначають, що міопії притаманний полігенний характер успадкування з низькою експресивністю і пенетрантністю генів, що детермінують міопію, і тому ймовірність впливу різних модифікуючих факторів на її перебіг досить велика [3; 4], хоча в деяких роботах наголошується на моногенному типі успадкування [2]. Особливу роль генетичні фактори відіграють у розвитку міопії при різних синдромах спадкової природи [5; 6]. Як правило, у цих випадках тип передачі автономно-рецесивний або зчеплений зі статтю.

Слід зазначити, що передбачувані гени-кандидати автономно-домінантної міопії досі не ідентифіковані, проте відома їх локалізація в ділянці 7,6 сМ на хромосомі 18p11.31 (*MYP2*) та в ділянці 30 сМ на хромосомі 12q21-23 (*MYP3*) [7; 8]. Усього описано 108 генів, експресія яких так чи інакше пов'язана з розвитком коротко-

зорості. На довгому плечі 15-ї хромосоми 15q14 знайдені ділянки, мутації в яких вірогідно призводять до розвитку міопії, асоційований локус розташований поруч із двома генами, які активно експресуються в сітківці [9].

Аналіз даних, що стосуються патогенезу міопії, дозволяє розглядати її як мультифакторіальне захворювання. Мультифакторіальні захворювання — це велика і нозологічно різноманітна група хвороб, розвиток яких визначається взаємодією певних спадкових факторів (мутацій або поєднань алелів) і факторів зовнішнього середовища [10]. Однією з ключових ланок патогенезу багатьох мультифакторіальних захворювань є оксидативний стрес, вираженість якого регулюється спроможністю антиоксидантних систем, зокрема глутатіон-опосередкованої системи детоксикації [11]. Таким чином, аналіз поліморфізму глутатіон-S-трансферази із метою виявлення генетичних факторів схильності до міопії, на наш погляд, є доцільним. Однак у літературі відсутні дані про поліморфізм генів глутатіон-S-трансферази у хворих на міопію.

**Метою** роботи було дослідження поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази *GSTM1* і *GSTT1* у хворих на міопію з різною швидкістю прогресування захворювання.

## Матеріали та методи дослідження

Під спостереженням перебувало 47 хворих із міопією різ-

ного ступеня віком від 17 до 36 років. Розподіл хворих на групи спостереження проводили залежно від характеру прогресування міопії. У 18 пацієнтів на момент дослідження міопія прогресувала. У решти хворих швидкість прогресування міопії визначали ретроспективно на підставі аналізу амбулаторних карток спостереження пацієнтів. До першої групи увійшли 29 хворих із прогресуванням міопії менше ніж на 1 діоптрію за середнім сферичним еквівалентом за рік, до другої — 18 хворих, у яких збільшення за середнім сферичним еквівалентом за рік було більше 1 діоптрії. Залежно від ступеня міопії пацієнти були розподілені так: у 18 хворих діагностовано міопію слабого ступеня, у 9 осіб — середнього, у 20 — високого. Усім хворим проведено стандартне офтальмологічне обстеження.

За умов інформованої згоди пацієнта проводили взяття крові для генетичних досліджень. Поліморфні алелі гена глутатіон-S-трансферази T1 (*GSTT1*) і M1 (*GSTM1*) визначали шляхом виділення геномної ДНК із лейкоцитів периферичної крові пацієнтів за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-Б» («Амплісенс», Російська Федерація) для виділення ДНК із клітин крові. Поліморфну ділянку *GSTM1*, *GSTT1* ампліфікували за допомогою мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на ампліфікаторі «Терцик» фірми «ДНК-технологія» (Російська Федерація) із використанням локуспецифічних олігонук-





Розподіл частот генотипів *GSTM1* і *GSTT1* у хворих на міопію різного ступеня

Ступінь міопії	Генотип			
	<i>GSTT1+</i>	<i>GSTT1 0/0</i>	<i>GSTM1+</i>	<i>GSTM1 0/0</i>
Низький, n=18	17	1	9	9
Середній, n=9	8	1	3	6
Високий, n=20	17	3	10	10
Усього, n=47	42 (89,4 %)	5 (10,6 %)	22 (46,8 %)	25 (53,2 %)

Примітка. У табл. 1 і 2: статистично вірогідних відмінностей між групами порівняння не виявлено.

леотидних праймерів згідно з протоколом ПЛР для одномоментного аналізу поліморфізму *GSTM1* і *GSTT1* за M. Arand et al. (1996) [12]. Аналіз продуктів реакції для *GSTM1* і *GSTT1* проводили в агарозному гелі концентрацією 1 % із подальшим забарвленням етидієм бромідом і візуалізацією в ультрафіолетовому світлі.

Статистичний аналіз проводили з використанням непараметричних методів, зокрема точного критерію Фішера [13].

### Результати дослідження та їх обговорення

У результаті проведених досліджень визначена кількість хворих на міопію з різним генотипом *GSTM1* і *GSTT1* (табл. 1). Виявлено, що серед хворих на міопію розподіл частот генотипів *GSTM1* і *GSTT1* статистично вірогідно не відрізняється від такого у донорів. Дані для проведення популяційного контролю отримані із загальнодоступних джерел [10; 14]. У групі міопів null-генотип *GSTT1* траплявся в 10,6 % випадків (див. табл. 1), що статистично вірогідно не відрізнялося від популяційного контролю, наведеного нижче ( $p=0,084$ ;  $p=0,199$  відповідно). За даними дослідників, у групі популяційного контролю, що утворена з 297 осіб, делеція (0/0) гена *GSTT1* траплялася у 20,0 % випадків [14], за іншими даними, делеція (0/0) гена *GSTT1* виявлена у 17,7 % донорів, а частота зазначеної делеції в європейських популяціях становить 15–20 % [10].

У свою чергу, у хворих на міопію null-генотип *GSTM1* виявлявся у 53,2 % випадків (див. табл. 1), що статистично вірогідно не відрізнялося від популяційного контролю ( $p=0,1453$ ;  $p=0,2552$  відповідно). За даними, наведеними в роботі [14], у групі популяційного контролю делеція (0/0) гена *GSTM1* виявлена в 46,8 % випадків, у роботі [10] наводяться дані про 41,1 % випадків, а частота

та зазначеної делеції в європейських популяціях становить від 38,0 до 62,0 %. Таким чином, зустрічальність гомозигот (0/0) за геном *GSTT1* і *GSTM1* серед хворих на міопію відповідає частоті серед донорів, що дозволяє зробити проміжний висновок про відсутність зв'язку між генотипом глутатіон-S-трансферази і схильністю до виникнення міопії. Відсутні також статистично вірогідні відмінності між групами хворих із різним ступенем короткозорості за частотою виявлення гомозигот за null-генотипами *GSTT1* і *GSTM1*.

Зниження або відсутності активності ферментів другої фази детоксикації сприяє тривалому збереженню токсичних проміжних продуктів біотрансформації. Ризик виникнення соматичних захворювань збільшується за умов одночасної відсутності активності кількох ферментів. Тому нами проведено аналіз частоти поєднання гомозигот за null-генотипами *GSTT1* і *GSTM1* серед хворих на міопію різного ступеня. При цьому не виявлено за-

лежності між наявністю поєднаної делеції генів *GSTT1* і *GSTM1* і ступенем захворювання. За даними, наведеними в роботі [10], частота поєднаних делецій генів *GSTT1* і *GSTM1* становить у донорів 4,4 %, що збігається з отриманими нами даними (табл. 2). Отже, наявність делеції генів *GSTT1* і *GSTM1* не можна вважати фактором ризику виникнення міопії.

Був досліджений зв'язок між прогресуванням міопії та наявністю у хворих делеції генів *GSTT1* і *GSTM1* (табл. 3). У результаті проведених досліджень з'ясовано, що статистично вірогідно більше пацієнтів із швидким прогресуванням міопії в групі хворих із поєднанням генотипів: відсутність делеції гена *GSTT1* і наявність делеції гена *GSTM1*.

Слід звернути увагу на те, що в групі пацієнтів із делецією гена *GSTT1* і відсутністю делеції гена *GSTM1* 100 % хворих мали повільне прогресування міопії. Натомість у групі з делецією обох досліджуваних генів 50 % хворих мали

Таблиця 2

Частота поєднаної делеції генів *GSTM1* і *GSTT1* у хворих на міопію різного ступеня

Ступінь міопії	Генотип			
	<i>GSTT1+</i> <i>GSTM1+</i>	<i>GSTT1+</i> <i>GSTM1-</i>	<i>GSTT1-</i> <i>GSTM1+</i>	<i>GSTT1-</i> <i>GSTM1-</i>
Низький, n=18	9	8	0	1
Середній, n=9	3	5	0	1
Високий, n=20	7	10	3	0
Усього, n=47	19 (40,4 %)	23 (48,9 %)	3 (6,4 %)	2 (4,3 %)



Частота делеції генів *GSTM1* і *GSTT1*  
у хворих із різною швидкістю прогресування міопії

Швидкість прогресування міопії	Генотип			
	<i>GSTT1+</i> <i>GSTM1+</i>	<i>GSTT1+</i> <i>GSTM1-</i>	<i>GSTT1-</i> <i>GSTM1+</i>	<i>GSTT1-</i> <i>GSTM1-</i>
Повільне прогресування, n=29	16	9	3	1
Швидке прогресування, n=18	3	14*	0	1
Усього, n=47	19	23	3	2

Примітка. \* —  $p < 0,05$  — порівняно з пацієнтами з відсутністю делеції генів *GSTM1* і *GSTT1*.

швидко прогресуючу міопію. Отримані дані також свідчать про те, що прогресування міопії асоціюється з наявністю делеції гена *GSTM1* і не залежить від наявності делеції гена *GSTT1*.

У зв'язку з малою чисельністю групи пацієнтів із генотипами *GSTT1-*, *GSTM1-* проведений аналіз не виявив статистично вірогідних відмінностей щодо кількості хворих із швидким прогресуванням міопії між зазначеною групою та іншими групами порівняння, що потребує збільшення вибірки у подальших дослідженнях.

Зважаючи на вищенаведене, окремо аналізували частоту делеції генів *GSTT1* та *GSTM1* у пацієнтів зі швидким прогресуванням міопії. З'ясовано, що групи пацієнтів із генотипом *GSTT1+* і *GSTT1-* статистично вірогідно не відрізняються за кількістю хворих із швидким прогресуванням міопії ( $p=0,3561$ ). У свою чергу, у групі пацієнтів із генотипом *GSTM1-* статистично вірогідно більше випадків швидкого прогресування захворювання ( $p=0,0012$ ).

Слід зазначити, що виявлена залежність між наявністю у хворих делеції гена *GSTM1* і схильністю до прогресування короткозорості патогенетично обґрунтована, оскільки останнім часом встановлено, що виникнення та прогресування акомодацийних порушень при міопізації ока пов'язані не

лише з дією зовнішніх факторів, але й із порушенням функціонального стану антиоксидантної системи [15].

### Висновки

Наявність делеції генів *GSTT1* і *GSTM1* не є фактором схильності до виникнення міопії, але наявність делеції гена *GSTM1* може бути фактором, що підвищує ризик прогресування міопії.

**Перспективи подальших розробок.** На підставі отриманих даних планується розробити метод прогнозування швидкості прогресування міопії.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Hornbeak D. M. Myopia Genetics: A Review of Current Research and Emerging Trends / D. M. Hornbeak, T. L. Young // *Curr. Opin. Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 20, N 5. – P. 356–362.
2. Маркосян Г. А. Генетика миопии: современные аспекты проблемы / Г. А. Маркосян, Е. Н. Тарутта, Н. Н. Вассерман // *Глаз.* – 2005. – № 6. – С. 7–10.
3. Myopia and the urban environment: findings in a sample of 12-year-old Australian school children / J. M. Ip, K. A. Rose, I. G. Morgan [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2008. – Vol. 49, N 9. – P. 3858–3863.
4. Pan C. W. Worldwide prevalence and risk factors for myopia / C. W. Pan, D. Ramamurthy, S. M. Saw // *Ophthalmic Physiol. Opt.* – 2012. – Vol. 32, N 1. – P. 3–16.
5. Stickler syndrome, ocular-only variants and a key diagnostic role for the ophthalmologist / M. P. Snead, A. M. McNinch, A. V. Poulson [et al.] // *Eye.* – 2011. – Vol. 25, N 11. – P. 1389–1400.

6. Konradsen T. R. A descriptive study of ocular characteristics in Marfan syndrome / T. R. Konradsen, C. Zetterström // *Acta Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 91, N 8. – P. 751–755.

7. Genomic structure and organization of the high grade Myopia-2 locus (MYP2) critical region: mutation screening of 9 positional candidate genes / G. S. Scavello, P. C. Paluru, J. Zhou [et al.] // *Mol. Vis.* – 2005. – Vol. 2, N 11. – P. 97–110.

8. Refinement of the MYP3 locus on human chromosome 12 in a German family with Mendelian autosomal dominant high-grade myopia by SNP array mapping / G. Nürnberg, F. K. Jacobi, M. Broghammer [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2008. – Vol. 21, N 4. – P. 429–438.

9. A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for refractive errors and myopia at 15q14 / A. M. Solouki, V. J. Verhoeven, C. M. Van Duijn [et al.] // *Nat. Genet.* – 2010. – Vol. 42, N 10. – P. 897–901.

10. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В. С. Баранова. — СПб. : Изд-во Н-Л, 2009. — 528 с.

11. Хрунин А. В. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз в популяциях русского населения европейской части России / А. В. Хрунин, Д. В. Хохрин, С. А. Лимборская // *Генетика.* – 2008. – Т. 44. – С. 1429–1434.

12. A Multiplex Polymerase Chain Reaction Protocol for the Simultaneous Analysis of the Glutathione S-Transferase *GSTM1* and *GSTT1* Polymorphisms / M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler [et al.] // *Analytical biochemistry.* – 1996. – Vol. 236, N 1. – P. 184–186.

13. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — М. : Практика, 1998. — 459 с.

14. Кулемина Е. А. Клинические и молекулярно-генетические особенности формирования бронхиальной астмы у лиц, работающих в контакте с аэрозолями поливинилхлорида : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук : спец. 14.01.25 «Пульмонология» / Е. А. Кулемина. — М., 2012. — 19 с.

15. Коррекция оксидативного стресса и гемодинамических изменений при миопии и нарушениях аккомодации у детей / А. В. Матвеев, М. Р. Гусева, Е. Ю. Маркова [и др.] // *Российская педиатрическая офтальмология.* – 2012. — № 1. — С. 25–28.

### REFERENCES

1. Hornbeak D.M., Young T.L. Myopia Genetics: A Review of Current



Research and Emerging Trends. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 2009; 20 (5): 49-53.

2. Markosyan G.A., Tarutta E.N., Vasserman N.N. Genetika miopii: sovremennye aspekty problemy [Genetics of myopia: modern aspects]. *Glaz.* 2005; 6: 7-10.

3. Ip J.M., Rose K.A., Morgan I.G., Burlutsky G., Mitchell P. Myopia and the urban environment: findings in a sample of 12-year-old Australian school children. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008; 49 (9): 3858-3863.

4. Pan C.W., Ramamurthy D., Saw S.M. Worldwide prevalence and risk factors for myopia. *Ophthalmic Physiol. Opt.* 2012; 32 (1): 3-16.

5. Snead M.P., McNinch A.M., Poulson A.V., Bearcroft P., Silverman B., Gomersall P., Parfekt V., Richards A.J. Stickler syndrome, ocular-only variants and a key diagnostic role for the ophthalmologist. *Eye* 2011; 25 (11): 1389-1400.

6. Konradsen T.R., Zetterström C. A descriptive study of ocular characteristics in Marfan syndrome. *Acta Ophthalmol.* 2013; 91 (8): 751-755.

7. Scavello G.S., Paluru P.C., Zhou J., White P.S., Rappaport E.F., Young T.L. Genomic structure and organization of the high grade Myopia-2 locus (MYP2) critical region: mutation screening of 9 positional candidate genes. *Mol. Vis.* 2005; 2 (11): 97-110.

8. Nürnberg G., Jacobi F.K., Broghammer M., Becker C., Blin N., Nürnberg P., Stephani U., Pusch C.M. Refinement of the MYP3 locus on human chromosome 12 in a German family with Mendelian autosomal dominant high-grade myopia by SNP array mapping. *Int. J. Mol. Med.* 2008; 21 (4): 429-438.

9. Solouki A.M., Verhoeven V.J., van Duijn C.M., Verkerk A.J., Ikram M.K., Hysi P.G., Despriet D.D., van Koolwijk L.M., Ho L., Ramdas W.D., Czudowska M., Kuijpers R.W., Amin N., Struchalin M., Aulchenko Y.S., van Rij G., Riemsdijk F.C., Young T.L., Mackey D.A., Spector T.D., Gorgels T.G., Willemsse-Assink J.J., Isaacs A., Kramer R., Swagemakers S.M., Bergen A.A., van Oosterhout A.A., Oostra B.A., Rivadeneira F., Uitterlinden A.G., Hofman A., de Jong P.T., Hammond C.J., Vingerling J.R., Klaver C.C. A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for refractive errors and myopia at 15q14. *Nat. Genet.* 2010; 42 (10): 897-901.

10. Baranov V.S. Geneticheskiy pasport — osnova individual'noy i prediktivnoy mediciny [Genetic passport — the basis of individual and predictive medicine]. St. Petersburg: N-L., 2009. 528 p.

11. Khrunin A.V., Khokhrin D.V., Limborskaya S.A. Polimorfizm genov glutatione-S-transferaz v populyatsiyah russkogo naseleniya evropeyskoy

chasti Rossii [Gene polymorphism glutathione-S-transferases in the populations of the Russian population of the European part of Russia]. *Genetika* 2008; 44: 1429-1434.

12. Arand M., Mühlbauer R., Hengstler J., Jäger E., Fuchs J., Winkler L., Oesch F. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione-S-transferase *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms. *Anal Biochem.* 1996; 236 (1): 184-186.

13. Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika [Biomedical statistics]. Moscow, Praktika, 1998. 459 p.

14. Kulemina Ye.A. Klinicheskiye i molekulyarno-geneticheskiye osobennosti formirovaniya bronkhialnoy astmy u lits, rabotayushchikh v kontakte s aerolyami polivinilkhlorida [Clinical and molecular genetic features of the formation of asthma among people working in contact with aerosols PVC]. Thesis for a candidate scientific degree by speciality 14.01.25 "Pulmonology". Moscow, 2012. 19 p.

15. Matveev A.V., Guseva M.R., Markova E.Yu., Ul'shina L.V., Kuznecova Yu.D. Korrekciya oksidativnogo stressa i gemodinamicheskikh izmeneniy pri miopii i narusheniyakh akkomodatsii u detey [Correction of oxidative stress and hemodynamic changes in children with myopia and accommodation disorders]. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftalmologiya* 2012; 1: 25-28.

Надійшла 12.05.2014

УДК 616.314-77-06:616.31-002]-08

Л. Д. Чулак, О. А. Зверхановський

## КЛІНІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ НОВОГО МЕТОДУ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ПРОТЕЗНИХ СТОМАТИТІВ ЗА ПОВНОЇ ВІДСУТНОСТІ ЗУБІВ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.314-77-06:616.31-002]-08

Л. Д. Чулак, О. А. Зверхановський

### КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ НОВОГО МЕТОДА ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПРОТЕЗНЫХ СТОМАТИТОВ ПРИ ПОЛНОМ ОТСУТСТВИИ ЗУБОВ

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Приводится вариант решения проблемы профилактики и лечения протезных стоматитов, возникающих при пользовании полными съемными акриловыми протезами.

Авторы предлагают модификацию базиса протеза с целью создания депо лекарственного вещества — амарантового масла с содержанием сквалена 7,5 %. При длительном пользовании данным методом профилактики авторы исследования выявили снижение показателей, свидетельствующих о воспалительном состоянии слизистой оболочки полости рта.

**Ключевые слова:** амарантовое масло, сквален, съемный пластиночный протез, акриловый базис, протезный стоматит.

UDC 616.314-77-06:616.31-002]-08

L. D. Chulak, O. A. Zverkhanovskyy

### CLINICAL SUBSTANTIATION FOR A NEW METHOD FOR PREVENTION AND TREATMENT OF PROSTHETIC STOMATITIS WITH EDENTULOUS JAWS

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

**Purpose:** development of a simple, affordable, easy-to-use method of prevention and treatment of prosthetic stomatitis in the complete absence of teeth and prosthetic defects acrylic dentures.

**Methods.** In clinical testing method we have 36 people with complete maxillary defects with metal prostheses in the mandible. In most cases, patients have acrylic dentures. Patients were divided into





two groups: the first group there were produced traditional dentures, with no prevention for the above-mentioned method, the second group comprised patients who were produced a modified prosthesis with prophylactic use of Amaranth Oil for 1 month. We conducted two studies. The first concerned the definition of quality prosthetic method for determining the frequency of corrections and research strength of fixation of prostheses, which were determined through a survey of the patient subjectively and objectively determined and manipulative way of three stages: very good, good, poor.

**Results.** The corrections analysis of prostheses in the first group has shown that at the traditional technology 62.5% of patients needed the third and more corrections. Complete adaptation to the prosthesis without complaints of painful sensations when a correction was observed only in 25.0% of the first group of patients.

**Conclusions.** Due to the original denture with complete prosthesis with using polystyrene grid, with its help the system of microchannels for the drugs application, such as Amaranth oil, makes it possible to achieve painless effective treatment of prosthetic stomatitis, provides comfort of use of removable dentures and economic feasibility.

**Key words:** amaranth oil, squalene, a removable plate denture acrylic basis prosthetic stomatitis.

## Актуальність теми

Значна кількість осіб, які користуються акриловими знімними протезами, страждають на стоматит, який учені називають протезним [1]. Причиною цього захворювання є той факт, що знімний протез — механічний і хімічний подразник, який чинить комбінований вплив на середовище порожнини рота, слизову оболонку й організм у цілому [2]. Механічна дія на слизову оболонку порожнини рота (СОПР) здійснюється краями базису, пористістю та шорсткістю поверхні протеза. Хімічний вплив на СОПР спричинюють складові інгредієнти матеріалів протезів, які виділяються у навколишнє середовище. Термічна дія викликана недостатньою теплопровідністю матеріалу базису протеза й порушенням процесів теплообміну, утворенням так званого парникового ефекту. Біологічний вплив зумовлений створенням умов для розвитку мікроорганізмів і проникнення продуктів їх життєдіяльності до підлеглих тканин [3].

При користуванні знімними протезами виникає атрофія альвеолярних відростків, яка може посилюватися через нерациональний розподіл жуваального тиску [4]. Саме тому розробка методів профілактики та лікування протезних стоматитів при протезуванні повними знімними протезами набуває сьогодні найбільшої актуальності.

Нині відомі різні методи профілактики протезних стоматитів [5–7]. Так, пропонувалося наносити тонкий шар

(0,05 мм) епоксидного лаку або обробляти поверхню Н-бутиловим ефіром оцтової кислоти. Деякі автори пропонували вводити до складу базисної пластмаси різні лікувальні засоби: склареол, ліофіл, живокіст,  $\epsilon$ -амінокапронова кислота, застосовували полімеризацію акрилової пластмаси з полівініловим спиртом і насичення протезів лізоцимом. Також поверхня протезів екранувалася сумішшю восків ефіроолійних рослин (шавлії, лаванди, троянди), покриттям золотом, сріблом, нітритом титану тощо.

Проте всі вказані методи малоефективні, дорогі, складні у використанні, тому проблема протезних стоматитів залишається актуальною донині.

**Мета** нашого дослідження — розробка простого, доступного, легкого у використанні методу профілактики та лікування протезних стоматитів за повної відсутності зубів і при протезуванні дефектів акриловими протезами.

## Матеріали та методи дослідження

Запропонований нами метод полягає у такому: за повної відсутності зубів за традиційною технологією виготовляємо акриловий пластинковий протез, при цьому під час остаточного моделювання базису повного пластинкового знімного протеза на модель ділянки твердого піднебіння наносимо полістиролову сітку (рис. 1) із розмірами вічка 2–3,5 мм для створення системи мікроканалів, яку встановлюють так, щоб її краї відступали від меж майбутнього протеза

не менше ніж на 4–5 мм, потім при заміні воску на пластмасу сітку видаляють. Після накладення протеза в клініці 1 раз на добу після прийому їжі та гігієни конструкції сам пацієнт наносив за допомогою піпетки на створену після полімеризації систему мікроканалів 1–2 мл амарантової олії зі вмістом 7,5 % сквалену (рис. 2). Профілактика тривала щонайменше 1 міс. після накладення протеза.

Для клінічної апробації методу нами було проведено протезування 36 особам із повними дефектами верхньої щелепи без металевих протезів на нижній щелепі. Більшість пацієнтів запротезовано мостоподібними протезами. Хворих поділили на дві групи: у першій пацієнтам виготовляли протези за традиційною технологією без профілактики за вищевказаною методикою, другу групу утворили пацієнти, яким виготовляли модифікований протез із профілактичним застосуванням амарантової олії протягом 1 міс.

Із пацієнтами проведено два дослідження. У першому визначали якість протезування, досліджуючи частоту корекцій і силу фіксації протезів: суб'єктивно, опитуючи пацієнта, й об'єктивно — мануальним способом, оцінюючи так: дуже добре, добре, незадовільно.

## Результати дослідження та їх обговорення

Результати аналізу корекцій протезів у першій групі показали, що при традиційній технології трьох і більше корекцій потребувало 62,5 % пацієнтів (рис. 3). Повна адаптація до



протеза без скарг на болісні відчуття після однієї корекції спостерігалася лише у 25,0 % пацієнтів першої групи.

Ці дані свідчать, що звикання до протеза проходило через виникнення та хронічний перебіг протезного стоматиту, що ускладнило звикання до протезів у хворих першої групи.

При оцінюванні результатів у групі, де проводилася корекція із застосуванням амарантової олії, відсоток пацієнтів, звикання яких відбувалося після однієї корекції, майже корелював із даними першої групи. Проте кількість осіб, яка потребувала трьох і більше корекцій, знизилася майже на третину — до 25,0 % (рис. 4).

Визначаючи ступінь фіксації протезів у першій групі, виявили, що дуже доброю вона була у 4 пацієнтів, доброю — у 5 пацієнтів, слабкою — у 7. Після проведення корекції, через 7 днів використання протезів, ефективність фіксації у хворих першої групи підвищилася на 12,5 %, а через місяць — на 17,5 % (табл. 1).

У хворих другої групи показники фіксації протягом доби були дещо гіршими: дуже доброю фіксація була у 3 пацієнтів, доброю — у 7 пацієнтів, слабкою — у 10. Проте після звикання до протеза, через 7 днів, показники вирівнювалися, а через 1 міс. фіксація була кращою, ніж у пацієнтів першої групи (табл. 2).

### Висновки

Оригінальне протезування повними знімними протезами із застосуванням полістиролової сітки, за допомогою якої виготовляється система мікроканалів для нанесення лікарських засобів, наприклад амарантової олії, дозволяє досягти невеликого ефективного лікування протезних стоматитів, зручності використання знімного протеза й економічної доцільності.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Орнат Г. С. Оцінка ефективності лікування протезних стоматитів вітчизняним препаратом «Ербісол» / Г. С. Орнат // Український бальнеологічний журнал. — 2001. — № 2. — С. 91–94.

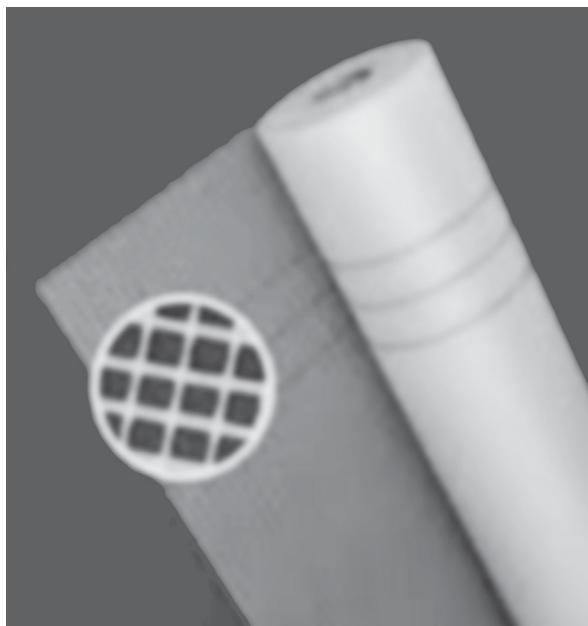


Рис. 1. Сітка, яка використовується для виготовлення модифікованого протеза



Рис. 2. Амарантова олія

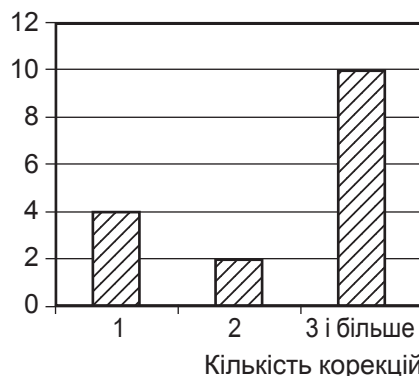


Рис. 3. Розподіл хворих першої групи за частотою звернення щодо корекції повного знімного протеза

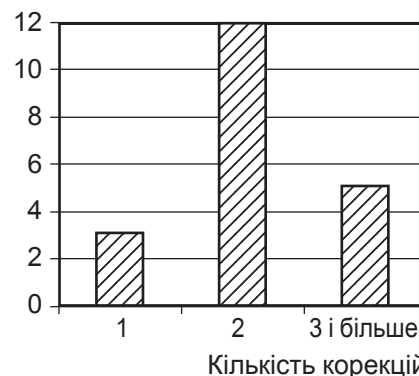


Рис. 4. Розподіл хворих другої групи за частотою звернення щодо корекції повного знімного протеза

Таблиця 1

### Результати дослідження ступеня фіксації повних знімних протезів у першій групі пацієнтів

Ступінь фіксації	1 доба	7 днів		1 міс.	
	абс. (%)	абс. (%)	зміни, %	абс. (%)	зміни, %
Дуже добра	4 (25,0)	6 (37,5)	+12,5	7 (43,7)	+18,7
Добра	2 (12,5)	4 (25,0)	+12,5	5 (31,3)	+18,8
Незадовільна	10 (62,5)	6 (37,5)	-25,0	4 (25,0)	-37,5
Усього	16 (100)	16 (100)	—	16 (100)	—

Таблиця 2

### Результати дослідження ступеня фіксації повних знімних протезів у другій групі пацієнтів

Ступінь фіксації	1 доба	7 днів		1 міс.	
	абс. (%)	абс. (%)	зміни, %	абс. (%)	зміни, %
Дуже добра	3 (15,0)	7 (35,0)	+20,0	8 (40,0)	+20,0
Добра	7 (35,0)	10 (50,0)	+15,0	10 (50,0)	0
Незадовільна	10 (50,0)	3 (15,0)	-35,0	2 (5,0)	-45,0
Усього	20 (100,0)	20 (100,0)	—	20 (100,0)	—



2. Гожая Л. Д. Заболевания слизистой оболочки полости рта, вызванные применением материалов для изготовления зубных протезов / Л. Д. Гожая, Т. Г. Исакова // Материалы 14-й и 15-й Всероссийской научно-практической конференции и труды 10-го съезда Стоматологической ассоциации России : Москва, 2008. – М., 2005. – С. 133–134.

3. Дівнич Т. Я. Медикаментозна корекція мікробіоценозу ротової порожнини при користуванні знімними конструкціями зубних протезів / Т. Я. Дівнич, М. М. Рожко, Р. В. Кулік // Галицький лікарський вісник. – 2008. – № 3. – С. 22–25.

4. Вязьмин А. Клиническое значение дифференциальной диагностики причин нарушения функциональной эффективности полных съемных протезов / А. Вязьмин, И. Фластнер, Е. Мокренко // Стоматолог. – 2004. – № 5. – С. 32–34.

5. Василюшин У. Р. Клініко-імунологічна оцінка ефективності застосування імудону як засобу імунотропічної та імунотерапії інфекційно-алергічних захворювань слизової оболонки порожнини рота при користуванні знімними конструкціями зубних протезів / У. Р. Василюшин, Г. М. Ерстенюк // Галицький лікарський вісник. – 2007. – № 1. – С. 25–27.

6. Генкова Ю. А. Клинико-экспериментальная оценка антимикроб-

ной обработки съемных ортопедических конструкций из базисных пластмасс : автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.01.22 «Стоматология» / Ю. А. Генкова. – Новосибирск, 2006. – 22 с.

7. Рыжова И. П. Современные технологии в протезировании съемными протезами / И. П. Рыжова // Современная стоматология. – 2006. – № 6. – С. 34–35.

#### REFERENCES

1. Ornat G.S. Otsinka efektyvnosti likuvannya proteznykh stomatitiv vit-chiznyanyam preparatom "Erbisol" [Evaluating the effectiveness of treatment of prosthetic stomatitis native medicine "Erbisol"]. *Ukr. balneologichnuy zhurnal* 2001; 2: 91-94.

2. Gozhaia L.D., Isakova T.G. Zabo-levania slizistoy obolochki polosti rta, vyzvannye primeneniym dlya izgotovleniya zubnykh protezov [Diseases of the oral mucosa caused by the use of materials for the manufacture of dentures]. Materials 14 and 15 All-Russian scientific and practical conference Congress of the Dental Association of Russia. M., 2005, p. 133-134.

3. Divnich T.Ya., Rozhko M.M., Ku-lik R.V. Medykamentozna korektsiya mikrobiotsenozu rotovoi porozhnyny pry korystuvanni znimnyy konstruktsiyamy zubnykh proteziv [Pharmacological therapy microbiota of the oral cavity using a removable dental pros-

thesis designs] *Galytskyy likarskiy visnyk* 2008; 3: 22-25.

4. Viazmin A., Flastner I., Mokrenko E. Klinicheskoe znachenie differentsialnoy diagnostiki prichin narusheniya funktsionalnoy effektivnosti polnykh syomnykh protezov. *Stomatolog* 2004; 5: 32-34.

5. Vasilishin U.R., Erstenuk G.M. Kliniko-imunologichna otsinka efektyvnosti zastosuvannya imudonu yak zasobu imunoprofilaktyky ta imunoterapii infektsiyno-alergichnykh zahvruvan' slyzovoi obolonky porozhnyny rota pry korystuvanni znimnyy konstruktsiyamy proteziv [Clinical and immunological assessment of effectiveness Imudon use as a means of immunization and immunotherapy of infectious and allergic diseases of the oral mucosa using a removable dental prosthesis designs]. *Galytskyy likarskiy visnyk* 2007; 1: 25-27.

6. Genkova Yu.A. Kliniko-eksperimentalnaya otsinka antimikrobnoy obrabotki s'yomnykh ortopedicheskikh konstruktsiy iz basisnykh plastmass. [Clinical and experimental evaluation of antimicrobial treatment removable prosthetic basis of plastics]. Thesis of diss. Novosibirsk, 2006, 22 p.

7. Ryzhova I.P. Sovremennye tekhnologii v protesirovani s'yomnyy protezami [Modern manufacturing techniques removable dentures] *Sovremennaya stomatologia* 2006; 6: 34-35.

Надійшла 20.05.2014

УДК 575:616-008.61

С. А. Штандель, Т. М. Тихонова

## РОЗПОДІЛ ПОЛІМОРФІЗМУ E23K ГЕНА *KCNJ11* У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології імені В. Я. Данилевського НАМН України», Харків, Україна

УДК 575:616-008.61

С. А. Штандель, Т. М. Тихонова

### РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА E23K ГЕНА *KCNJ11* У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии имени В. Я. Данилевского НАМН Украины», Харьков, Украина

Целью исследования было изучить распределение полиморфизма E23K гена *KCNJ11* у больных разными клиническими вариантами течения сахарного диабета. У 231 больного сахарным диабетом (47 — 1 типа, 101 — 2 типа, 83 — медленно прогрессирующего аутоиммунного диабета взрослых) и 44 здоровых лица при помощи полимеразной цепной реакции и использования рестриктазы *VanII* изучено распределение полиморфизма E23K гена *KCNJ11*. Показано наличие ассоциации гомозиготного носительства этого полиморфизма с разными клиническими вариантами течения сахарного диабета ( $OR_{CD\ 1\ типа} = 13,10$ ;  $OR_{CD\ 2\ типа} = 12,88$ ;  $OR_{MПАДВ} = 14,69$ ).

**Ключевые слова:** сахарный диабет, медленно прогрессирующий диабет взрослых, полиморфизм E23K гена *KCNJ11*.

UDC 575:616-008.61

S. A. Shtandel, T. M. Tykhonova

### GENE *KCNJ11* E23K POLYMORPHISM AT DIABETES MELLITUS PATIENTS

V. Ya. Danylevsky Institute of Endocrine Pathology Problems, Kharkiv, Ukraine

The aim of the study was to examine the association of the *KCNJ11* gene polymorphism E23K with the predisposition to the different clinical variants of diabetes mellitus (DM) in Ukrainian population.





**Materials and methods.** The study was performed in the group of 47 patients with type 1 DM classical clinical form, 83 individuals with LADA (with anti islet, GADA antibodies and low C-peptide levels), 101 patients with type 2 DM and 44 healthy Kharkov inhabitants. The GADA, IA2A and ICA antibodies were measured with RIA. The presence of different variants of the *KCNJ11* gene polymorphism was estimated using the DNA sequencing method.

**Results.** LADA, type 2 and 1 DM patients had the higher E23K polymorphism of *KCNJ11* gene frequency, than control data in Kharkov population: the homozygote K/K polymorphism of *KCNJ11* gene association with different clinical form of diabetes mellitus was 51.82, 48.51, 48.94% vs 6.82%. Data of our study data suggested powerful association E23K polymorphism of *KCNJ11* gene in DM type 2, 1 and LADA patients in comparison to those with health ones: for K/K genotype —  $OR_{DM\ type\ 1} = 13.10$ ;  $OR_{DM\ type\ 2} = 12.88$ ;  $OR_{LADA} = 14.69$ .

**Conclusions.** It has been shown, that the homozygote K/K polymorphism of *KCNJ11* gene plays the important role in the type 2, 1 and LADA genetic predisposition in Ukrainian population.

**Key words:** diabetes mellitus, latent autoimmune diabetes of adults (LADA), E23K single nucleotide polymorphism of *KCNJ11* gene.

## Вступ

Ген *KCNJ11* знаходиться на 11-й хромосомі в ділянці p15.1. Ген *KCNJ11* кодує синтез білка Kir6.2 (Potassium inward rectifier 6.2), що входить до складу калієвого каналу в клітинах, які спроможні до збудження, та створює пору для транспортування іонів калію з клітини. Закриття каналу необхідне для секреції глюкозостимульованого інсуліну бета-клітинами. Відкриття цього каналу інгібує секрецію інсуліну. Білок Kir6.2 складається з 427 амінокислот із двома трансмембранними доменами (M1 і M2) та центральної пори (H5), що регулює IK1 компонент калієвого струму із затриманим випрямленням фази реполяризації. Більшість мутацій цього гена є місенс-мутаціями, що мають домінант-негативний ефект, який призводить до зниження IK1 струму, зменшення реполяризації та зростання тривалості потенціалу дії [1]. Сьогодні існує точка зору, що поліморфізм E23K гена *KCNJ11* бере участь у розвитку інсулінової недостатності у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу [2; 3]. Нині засвідчено існування асоціації поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на ЦД 2 типу [4–6]. Враховуючи наявність родичів, хворих на різні клінічні варіанти перебігу ЦД (1 тип і повільно прогресуючий автоімунний діабет дорослих — ППАДД) у хворих на ЦД 2 типу [7], доцільно було

дослідити розподіл цього поліморфізму серед хворих на різні форми ЦД. Окрім того, згідно з даними генетичного аналізу, у системі генетичного контролю ППАДД наявні 65,3 і 66,1 % генів, які зумовлюють схильність до розвитку ЦД 1 та 2 типів відповідно. Ці дані обґрунтовують актуальність дослідження розподілу поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на ППАДД.

**Метою** дослідження було визначення особливостей розподілу поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на різні клінічні варіанти перебігу ЦД.

## Матеріали та методи дослідження

Було встановлено розподіл поліморфізму E23K гена *KCNJ11* серед хворих на ЦД і здорових мешканців Харкова. Характеристика обстежених осіб подана в табл. 1. Верифікацію ППАДД здійснювали за допомогою визначення антитіл до цитоплазматичного антигена острівців Лангерганса (ICA ab) із використанням набору Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating Autoantibodies Against Islet Cell Antigens (Biomerica, США), до декарбоксилази глутамінової кислоти (GAD ab) за допомогою набору Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating Autoantibodies Against GAD Antigens (Biomerica, США), до тирозинфосфатази (IA-2 ab) із використанням набору Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating

Autoantibodies Against IA-2A (Medipan, США).

Титр антитіл розцінювали як позитивний при перевищенні оптичної щільності сироватки, що вивчалася, над оптичною щільністю контролю. Контрольну групу утворили репрезентативні за статтю та віком здорові особи. Діагноз ЦД 1 та 2 типів базувався на загальноприйнятій класифікації захворювання. Серед хворих на ЦД 2 типу 27 осіб були переведені на інсулінотерапію у термін 10 та більше років від початку захворювання у зв'язку зі встановленою (за результатами визначення С-пептиду) абсолютною інсулінонезалежністю. Виділення ДНК виконували із цільної крові з використанням набору для виділення ДНК «ДНК-сорб-В» (Москва, Російська Федерація).

Поліморфізм E23K гена *KCNJ11* було ампліфіковано за допомогою прямого GAATA-CGTCCTGACACGCCT і зворотного GCCAGCTGCACAGG-AAGGACAT праймерів. Реакційна суміш складалась із 25 нг геномної ДНК, 2,5 мкл 10x PCR буфера, 0,6 мкл dNTP (2,5 ммоль/л), 0,3 мкл кожного праймера (20 пмоль/л) і 0,3 мкл *Taq* полімерази (фірма «Сибензім») у 25 мкл реакційної суміші. Умови ампліфікації: первинна денатурація — 3 хв при 95 °С, подальші кроки — при 95 °С 1 хв, 1 хв — при 62 °С і 1 хв при 72 °С (35 циклів) та експозиція, що завершує полімеразну ланцюгову реакцію, при



72 °С 5 хв. Продукт ампліфікації (10 мкл) було інкубовано з рестриктазою BanII при 37 °С протягом 2 год і при 65 °С — 10 хв. Мутантний алель 23К втрачає послідовність рестрикції та складається з фрагмента 218 bp. Рестрикція алеля 23Е дає фрагменти 178 bp та 40 bp [8]. Відносний ризик розвитку захворювання Odds ratio (OR) за наявності поліморфізму оцінювали згідно з [9].

### Результати дослідження та їх обговорення

Результати порівняльного аналізу серед хворих на ППАДД, ЦД 1 та 2 типів розподілу хворих за генотипами E23K гена *KCNJ11*, який бере участь у розвитку інсулінової недостатності у хворих на ЦД 2 типу [2], наведені у табл. 2. Дослідження розподілу генотипів E23K гена *KCNJ11* серед груп, що порівнювалися, визначило високу асоціацію мутантних гомозигот із ЦД 1, 2 типів і ППАДД ( $OR_{\text{ЦД 1 типу}} = 13,10$ ;  $OR_{\text{ЦД 2 типу}} = 12,88$ ;  $OR_{\text{ППАДД}} = 14,69$ ). Також слід відзначити те, що хоча хворі на ППАДД частіше були гомозиготними носіями мутації E23K гена *KCNJ11*, порівняно з хворими на ЦД 2 та 1 типів (див. табл. 2) вірогідних різниць у частотах генотипів між хворими на ППАДД, ЦД 1 та 2 типів визначено не було (табл. 3). Отримані дані збігаються з даними про асоціацію поліморфізму E23K гена *KCNJ11* з ЦД 2 типу в різних популяціях світу [2–6]. Асоціацію цього поліморфізму з ЦД 1 типу можна пояснити наявністю хворих на ЦД 2 типу родичів у осіб із ЦД 1 типу й існуванням загальної кількості генів у системі генетичного контролю ЦД 1 та 2 типів згідно з даними тестування моделі генетичної гетерогенності Ch. Smith'a [10]. Значущу асоціацію поліморфізму E23K гена *KCNJ11* із ППАДД також можна пояснити існуванням значної кількості спільних із ЦД 1 та 2 типів генів (65,3 і 66,1 % відповідно) [7].

Таблиця 1  
Характеристика осіб, що обстежувалися,  $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ , роки

Показник	Контроль, n=44	ЦД 1 типу, n=47	ЦД 2 типу, n=101	ППАДД, n=83
Вік на час обстеження	35,40± ±0,90	39,27± ±0,94	54,44± ±0,52	53,62± ±1,78
Вік початку ЦД	—	23,97± ±0,99	43,30± ±0,59	45,59± ±1,49
Вік початку інсулінотерапії	—	23,97± ±0,99	53,35± ±0,87	48,16± ±1,41
Тривалість ефективної пероральної цукрознижувальної терапії	—	—	10,05± ±0,58	2,57± ±0,71

Таблиця 2  
Частота генотипів поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на цукровий діабет та у здорових мешканців Харкова

Генотип	Кількість хворих, абс. (%)	$\chi^2$	p	OR (95 % CI)
Контроль, n=44				
E/E	32 (72,73)	—	—	—
E/K	9 (20,45)	—	—	—
K/K	3 (6,82)	—	—	—
ЦД 1 типу, n=47				
E/E	8 (17,02)	26,410	0,000	0,08 (0,02–0,12)
E/K	16 (34,04)	1,479	0,224	2,01 (0,52–3,50)
K/K	23 (48,94)	17,743	0,000	13,10 (0,83–15,26)
ЦД 2 типу, n=101				
E/E	19 (18,81)	36,744	0,000	0,87 (0,15–1,28)
E/K	33 (32,67)	1,670	0,196	1,89 (0,57–3,06)
K/K	49 (48,51)	21,309	0,000	12,88 (2,88–15,44)
ППАДД, n=83				
E/E	20 (24,10)	26,150	0,000	0,12 (0,03–0,91)
E/K	20 (24,10)	0,059	0,808	1,23 (0,45–2,66)
K/K	43 (51,82)	23,285	0,000	14,69 (3,92–19,20)

Примітка. OR — показник відносного ризику. У табл. 2, 3: p — значущість розбіжностей.

Таблиця 3  
Розбіжності між частотами генотипів поліморфізму E23K гена *KCNJ11* у хворих на цукровий діабет

Група порівняння	Генотип	$\chi^2$	p
ЦД 1 типу — ЦД 2 типу	E/E	0,001	0,973
	K/E	0,001	0,982
	K/K	0,017	0,897
ЦД 1 типу — ППАДД	E/E	0,519	0,471
	K/E	1,027	0,311
	K/K	0,017	0,895
ППАДД — ЦД 2 типу	E/E	0,478	0,489
	K/E	1,243	0,265
	K/K	0,088	0,767



## Висновки

1. Знайдено асоціацію поліморфізму E23K гена *KCNJ11* із різними формами ЦД (OR<sub>ЦД 1 типу</sub> = 13,10; OR<sub>ЦД 2 типу</sub> = 12,88; OR<sub>ППАДД</sub> = 14,69).

2. Не визначено значущих різниць у частотах генотипів між хворими на ППАДД, ЦД 1 та 2 типів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Крупянко С. М. Синдром Андерсена / С. М. Крупянко, Т. Т. Какучая // *Аннали аритмології*. – 2005. – № 4. – С. 35–41.

2. Frayling T. M. Genetic studies of diabetes following the advent of the genome-wide association study: where do we go from here? / T. M. Frayling, M. I. McCarthy // *Diabetologia*. – 2007. – Vol. 50, N 11. – P. 2229–2233.

3. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel gene (KIR6.2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians / E. H. Hani, P. Boutin, E. Durand [et al.] // *Diabetologia*. – 1998. – Vol. 41, N 12. – P. 1511–1515.

4. Type 2 diabetes-associated missense polymorphisms *KCNJ11* E23K and *ABCC8* A1369S influence progression to diabetes and response to Interventions in the Diabetes Prevention Program / C. J. Florez, K. A. Jablonski, S. E. Kahn [et al.] // *Diabetes*. – 2007. – Vol. 56, N 2. – P. 531–536.

5. Li Y. Y. The *KCNJ11* E23K gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population: a meta-analysis of 6,109 subjects / Y. Y.

Li // *Mol. Biol. Rep.* – 2013. – N 1. – P. 141–146.

6. Riedel M. J. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes / M. J. Riedel, D. C. Steckley, P. E. Light // *Hum. Genet.* – 2005. – Vol. 116, N 2. – P. 133–145.

7. Штандель С. А. Изучение особенностей наследования латентного аутоиммунного диабета взрослых (LADA) / С. А. Штандель, Т. М. Тихонова // *Цитология и генетика*. – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 80–83.

8. The E23K variant in the Kir6.2 subunit of the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel does not augment impaired glucose tolerance in Caribbean subjects with a family history of type 2 diabetes / Ch. Ezenwaka, R. Kalloo, M. Uhlig [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 2005. – Vol. 185, N 6. – P. 439–444.

9. Bland M. The odds ratio / M. Bland, D. G. Altman // *BMJ*. – 2000. – Vol. 320, N 5. – P. 1468.

10. Генетический анализ эндокринных заболеваний щитовидной и поджелудочной желез / С. А. Штандель, Л. А. Атраментова, С. А. Финогенова, А. Р. Геворкян // *Цитология и генетика*. – 2000. – Т. 34, № 3. – С. 34–42.

## REFERENCES

1. Krupyanko S.M., Kakuchaya T.T. Andersen Syndrome. *Annaly of Aritmologii* 2005; 4: 35-41.

2. Frayling T.M., McCarthy M.I. Genetic studies of diabetes following the advent of the genome-wide association study: where do we go from here? *Diabetologia* 2007; 11 (50): 2229-2233.

3. Hani E.H., Boutin P., Durand E., Inoue H., Permutt M.A., Velho G., Froguel P. Missense mutations in the

pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel gene (KIR6.2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians *Diabetologia* 1998; 12 (41): 1511-1515.

4. Florez J.C., Jablonski K.A., Kahn S.E., Franks P.W., Dabelea D., Hamman R.F., Knowler W.C., Nathan D.M., Altshuler D. Type 2 diabetes-associated missense polymorphisms *KCNJ11* E23K and *ABCC8* A1369S influence progression to diabetes and response to interventions in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes* 2007; 56: 531-536.

5. Li Y.Y. The *KCNJ11* E23K gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population: a meta-analysis of 6,109 subjects *Mol. Biol. Rep.* 2013; 1: 141-146.

6. Riedel M.J., Steckley D.C., Light P.E. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes. *Hum. Genet.* 2005; 2 (116): 133-145.

7. Shtandel' S.A., Tikhonova T.M. A study of features of the inheritance of latent autoimmune diabetes of adults (LADA). *Cytologiya i Genetika* 2008; 5 (42): 351-354.

8. Ezenwaka Ch., Kalloo R., Uhlig M., Schwenk R., Eckel J. The E23K variant in the Kir6.2 subunit of the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel does not augment impaired glucose tolerance in Caribbean subjects with a family history of type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology* 2005; 6 (185): 439-444.

9. Bland M., Altman D.G. The odds ratio. *BMJ* 2000; 5 (320): 1468.

10. Shtandel' S.A., Atramentova L.A., Finogenova S.A., Gevorkian A.R. A genetic analysis of endocrine diseases of the thyroid and pancreas. *Tsitologiya i genetika* 2000; 34 (3): 34-42.

Надійшла 28.04.2014

Передплачуйте  
і читайте



# ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

Передплатний індекс 48717

У випусках журналу:

- ◆ Теорія і експеримент
- ◆ Клінічна практика
- ◆ Профілактика, реабілітація, валеологія
- ◆ Новітні технології
- ◆ Огляди, рецензії, дискусії







## ЛАРИСА МИТРОФАНОВНА ЯКИМОВА

Ректорат, кафедра оперативной хирургии с топографической анатомией с прискорбием сообщают об уходе из жизни старейшего сотрудника медицинского университета Ларисы Митрофановны Якимовой.

Лариса Митрофановна родилась 16 декабря 1920 года в селе Карпинены Кишиневской области в семье медиков (отец — фельдшер, мать — акушерка). В 1921 году родители были переведены на работу в село Старо-Казачье Измаильской области, где Лариса окончила 4 класса сельской школы. В 1938 году по окончании кишиневской гимназии она поступила на медицинский факультет в Бухаресте, где прозанималась два курса. В 1940 году после воссоединения Бессарабии вернулась домой и работала медсестрой в Старо-Казачанской райбольнице.

Во время Великой Отечественной войны вместе с родителями эвакуировалась в

Ростовскую область и поступила в Ростовский медицинский институт. Продолжала свое образование в Орджоникидзе, куда в 1943 году был эвакуирован институт, и через три года с отличием его окончила.

Вернувшись из эвакуации, работала врачом-ординатором райбольницы в Старо-Казачьем, а в начале 1948 года была зачислена в аспирантуру на кафедру оперативной хирургии с топографической анатомией Одесского медицинского института, в стенах которого начался новый этап ее трудовой жизни.

В 1951 году Лариса Митрофановна становится ассистентом, в 1962 году — доцентом кафедры, причем с апреля 1957-го по август 1958-го успешно исполняет обязанности заведующего кафедрой: читает лекции, принимает экзамены, ведет научно-исследовательскую работу. В 1954 году она блестяще защищает кандидатскую диссертацию на

тему: «К вопросу о восстановительной хирургии мочеточников», впервые в мире успешно применив для бесшовного соединения поврежденной ткани сосудосшивающий аппарат Гудова. Л. М. Якимова также разработала оригинальную методику изготовления и фотофиксации коррозионных препаратов легких человека. Обладая фантастической преданностью научной работе и фанатическим трудолюбием, в невероятно трудных условиях она нашла новое направление и в проблеме патогенеза нарушений кровотока в системе брыжеечных сосудов. Ларисой Митрофановной проделан колоссальный объем работ, опубликовано 67 научных трудов, но в связи с тяжелой болезнью запланированная докторская диссертация не была завершена.

В последующие годы Л. М. Якимова продолжала активно трудиться на педагогическом



поприще — ею подготовлены десятки тысяч студентов, и многие поколения выпускников, особенно хирургического профиля, любили ее за высочайший профессионализм, строгость и справедливость, отзывчивость и бескорыстие.

Как человек активной жизненной позиции она и после выхода на пенсию продолжала участвовать в общественной жизни, полностью отдавая себя любому делу, за которое бралась, будь то подготовка к выборам или работа народным заседателем, учас-

тие в работе правления общества «Знание» или в комиссии Одесского общества анатомов, гистологов и эмбриологов...

А с 1981 года любимым ее увлечением стал международный язык равноправия и демократии — эсперанто. Благодаря лингвистическим способностям и блестящему знанию румынского и французского языков, она легко им овладела и, развивая мультикультурные связи, стала бессменным членом правления и почетным секретарем эсперанто-клуба «Белая акация».

Участник Великой Отечественной войны, ветеран труда, Лариса Митрофановна мужественно боролась до конца. Но, к сожалению, 18 июня 2014 года этот удивительно прекрасный, одухотворенный и самоотверженный человек ушел из жизни — сердце, которое всегда все отдавало другим, остановилось. Семья, с которой пройден долгий путь совместной жизни, потеряла не только маму, бабушку и жену, но и ангела-хранителя.

Память о Ларисе Митрофановне Якимовой останется на долгие годы.

***Ректорат Одесского национального  
медицинского университета,  
коллектив кафедры оперативной хирургии  
и топографической анатомии***





## «ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ»

### Відомості про видання

«Одеський медичний журнал» засновано у 1926 році. За кілька років він набув неабиякого авторитету серед науковців. У ньому друкували свої праці вчені, чиї імена були всесвітньо відомі вже того часу або здобули визнання в майбутньому. Та згодом, на початку 30-х років, видання журналу було припинено. Поновлений у 1997 році, він за короткий час відновив свій авторитет і посів чільне місце серед наукових видань країни.

Засновниками «Одеського медичного журналу» є Міністерство охорони здоров'я України й Одеський національний медичний університет, видавцем — Одеський національний медичний університет.

Головним редактором з часів відновлення випуску журналу є академік НАМН України лауреат Державної премії України В. М. Запорожан. До складу

редакційної колегії та редакційної ради входять відомі вітчизняні та зарубіжні вчені.

Постановами Президії ВАК України № 1–05/2 від 27 травня 2009 року та № 1–05/5 від 31 травня 2011 року «Одеський медичний журнал» включено до переліку видань, у яких можуть публікуватися основні результати дисертаційних робіт з медицини, біології та фармації. Саме це й визначає тематику його публікацій. Щороку у журналі друкується близько двохсот статей і повідомлень.

Журнал виходить шість разів на рік. Він надходить до найвідоміших бібліотек країни, великих наукових центрів, десятків навчальних закладів. Його поява гідно оцінено за межами нашої країни.

Розповсюджується за передплатою. Передплатити журнал можна у будь-якому передплатному пункті. Передплатний індекс — 48717.

## ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ СТАТЕЙ ДО «ОДЕСЬКОГО МЕДИЧНОГО ЖУРНАЛУ»

1. В «Одеському медичному журналі» публікуються теоретичні й оглядові статті, які відображають важливі досягнення науки, підсумки завершених оригінальних клінічних і експериментальних досліджень, основні результати дисертаційних робіт з медицини, біології та фармації, а також матеріали меморіального характеру.

2. До розгляду приймаються проблемні статті загальним обсягом до 8 сторінок, огляди — до 10 сторінок, оригінальні й інші види статей — до 6 сторінок, короткі повідомлення — до 2 сторінок.

3. Не приймаються статті, які вже були надруковані в інших виданнях або запропоновані до публікації кільком виданням водночас, а також роботи, які за своєю сутністю є переробкою опублікованих раніше статей і не містять нового наукового матеріалу або нового наукового осмислення вже відомого матеріалу.

4. У журналі друкуються:

а) результати оригінальних досліджень у пріоритетних напрямках розвитку медичних, біологічних і фармацевтичних наук;

б) роботи з фундаментальних проблем біології, медицини, фармакології та фармації;

— генетики та прикладних аспектів медичної генетики;

— біофізичні та морфофункціональні характеристики клітин організму при різних видах патології;

— роботи з новітніх клітинних технологій;

— новітні розробки в галузі загальної і клінічної фармакології та фармації;

— досягнення в галузі вивчення етіології, патогенезу та діагностики сучасних захворювань;

— профілактика захворювань, щеплення, запобігання особливо небезпечним захворюванням;

в) огляди з сучасних актуальних проблем біології, медицини та фармації;

г) інформація, хроніка, ювілеї.

5. Стаття надсилається до редакції в двох примірниках, підписаних усіма авторами. Своїми підписами автори гарантують, що статтю написано з дотриманням правил підготовки статей до «Одеського медичного журналу», експериментальні та клінічні дослідження були виконані відповідно до міжнародних етичних норм наукових досліджень, а також надають редакції право на публікацію статті у журналі, розміщення її та матеріалів щодо неї на сайті журналу і в інших джерелах.

6. Стаття супроводжується направленням до редакції, завізованим підписом керівника та печаткою установи, де виконано роботу, а для вітчизняних авторів також експертним висновком, що дозволяє відкрити публікацію.

7. Якщо у статті використано матеріали, які є інтелектуальною власністю кількох організацій і раніше не публікувалися, автор має одержати дозвіл на їх публікацію кожної з цих організацій і надіслати його разом зі статтею.

8. Текст друкується через півтора інтервалу на стандартному машинописному аркуші (ширина полів: лівого, верхнього та нижнього по 2 см, правого — 1 см) шрифтом Arial (Arial Cyr) або Times (Times Cyr) розміром 14 пунктів. Сторінка тексту повинна містити не більше 30 рядків.

9. Мова статей — українська для вітчизняних авторів, російська й англійська для авторів з інших країн.





10. Матеріал статті має бути викладено за такою схемою:

- а) індекс УДК;
- б) ініціали та прізвище автора (авторів);
- в) назва статті;
- г) повна назва установи (установ), де виконано роботу, місто, країна;
- д) постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими та практичними завданнями;
- е) аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор;
- ж) виділення не розв'язаних раніше частин загальної проблеми, яким присвячується стаття;
- з) формулювання мети статті (постановка завдання);
- и) виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів;
- к) висновки з даного дослідження і перспективи подальших розробок у цьому напрямі;
- л) література;
- м) два резюме — російською мовою обсягом до 800 друкованих літер (0,45 сторінки) й англійською обсягом до 1800 друкованих літер (1 сторінка) за такою схемою: індекс УДК, ініціали та прізвище автора (авторів), назва статті, текст резюме, ключові слова (не більше п'яти).

11. Резюме англійською мовою має коротко повторювати структуру статті, включаючи вступ, мету та завдання, методи, результати, висновки, ключові слова. Ініціали та прізвище автора (авторів) подаються у транслітерації, назва статті — у перекладі на англійську. Ключові слова й інші терміни статті мають відповідати загальноприйнятим медичним термінам, наведеним у словниках. Не слід використовувати сленг і скорочення, які не є загальноживаними.

12. Хімічні та математичні формули вдруковують або вписують. Структурні формули оформляють як рисунки. У формулах розмічають: малі та великі літери (великі позначають двома рисками знизу, малі — двома рисками зверху простим олівцем); латинські літери підкреслюють синім олівцем; грецькі — обводять червоним олівцем; підрядкові та нарядкові цифри та літери позначають дугою простим олівцем.

13. У статтях слід використовувати Міжнародну систему одиниць СІ.

14. Рисунки (не більше двох) і підписи до них виконують окремо. На зворотному боці кожного рисунка простим олівцем слід указати його номер і назву статті, а за необхідності позначити верх і низ.

15. Таблиці (не більше трьох) слід друкувати на окремих сторінках, вони повинні мати нумерацію та назву. На полях рукопису необхідно вказати місце розміщення рисунків і таблиць. Інформація, наведена в таблицях і на рисунках, не повинна дублюватися.

16. Список літературних джерел повинен містити перелік праць за останні 5 років і лише в окремих випадках — більш ранні публікації. В оригінальних роботах цитують не більше 10 джерел, в оглядах — до 30. На кожну роботу в списку літератури має бути посилання в тексті рукопису. Література у списку розміщується згідно з порядком посилань на неї у тексті статті, які подають у квадратних дужках, або за алфавітом. Якщо наводяться роботи лише одного автора, вони розміщуються у хронологічно-

му порядку. До списку літературних джерел не слід включати роботи, які ще не надруковані.

17. Список подається у двох примірниках для кожного екземпляра статті, які друкуються окремо один від одного. Перший примірник оформляється відповідно до ДСТУ ГОСТ 7.1:2006. Другий — повністю повторює перший, але латиницею за нижче наведеними схемами.

**Для статей:**

Author A.A., Author B.B., Author C.C. Title of article. Title of Journal 2005; 5(129): 49-53.

Прізвища авторів і назва журналу подаються латиницею у транслітерації, назва статті — у перекладі на англійську.

**Для матеріалів конференцій:**

Riabinina, A.A., Berezina, E.V., Usol'tseva, N.V. Surface Tension and Lyotropic Mesomorphism in Systems Consisting of Nonionogenic Surfactant and Water, *Liotropnye zhidkie kristally i nanomaterialy: sbornik statei VII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Lyotropic Liquid Crystals and Nanomaterials: Proceedings of the Seventh International Conference)*, Ivanovo: Ivanovskii Gos. Univ., 2009, p. 73-75.

Прізвища авторів подаються у транслітерації, назва праці — у перекладі на англійську. Головне в описах конференцій — назва конференції мовою оригіналу (подається у транслітерації, якщо немає її англійської назви), виділяється курсивом. У дужках наводиться переклад назви на англійську. Вихідні дані (місце проведення конференції, місце видання, рік, сторінки) — англійською.

**Для монографій та інших книжок:**

Nenashev M.F. *Poslednee pravitel'stvo SSSR* [Last government of the USSR]. Moscow, KromPubl., 1993. 221 p.

Прізвища авторів подаються у транслітерації, назва книжки — курсивом у транслітерації з перекладом на англійську у квадратних дужках. Місце видання, рік видання, загальна кількість сторінок — англійською, назва видавництва — у транслітерації.

**Зауважусмо:** у списку латиницею потрібно указувати всіх авторів літературного джерела, на яке Ви посилаєтесь (ДСТУ ГОСТ 7.1:2006 цього не передбачає). Також не слід у ньому застосовувати передбачених ДСТУ ГОСТ 7.1:2006 знаків розділення: // і —. Назву джерела (журнал, конференція, книга) завжди виділяють курсивом.

Дотримання цих правил забезпечить коректне відображення цитованих джерел у переважній більшості реферативних наукометричних баз даних.

18. Скорочення слів і словосполучень подаються відповідно до ДСТУ 3582-97 і ГОСТ 7.12-93.

Для тих, хто не має доступу до повного тексту ДСТУ, на сайті Одеського медуніверситету наведено приклади оформлення бібліографічних записів. Доступ за посиланням <http://odmu.edu.ua/index.php?v=1179>.

19. До статті на окремому аркуші мовою оригіналу й англійською додаються відомості про авторів, які містять: вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ім'я та по батькові (повністю), місце роботи й посаду, яку обіймає автор, адресу для листування, номери телефонів, факсів та адреси електронної пошти.

20. До друкованих матеріалів, виконаних із використанням комп'ютерних технологій, обов'язково додаються матеріали комп'ютерного набору та графіки на дискеті (лазерному диску).



Текст може бути таких форматів: Word for Windows, RTF (Reach Text Format).

Графічний матеріал слід подавати в окремих файлах форматів XLS, TIFF, WMF або CDR. Роздільна здатність штрихових оригіналів (графіки, схеми) форматів TIFF повинна бути 300–600 dpi B&W, напівтонових (фотографії та ін.) — 200–300 dpi Gray Scale (256 градацій сірого). Ширина графічних оригіналів — 5,5, 11,5 і 17,5 см.

21. Статті піддаються науковому рецензуванню, за результатами якого ухвалюється рішення про доцільність публікації роботи. Відхилені статті не повертаються і повторно не розглядаються.

22. Редакція залишає за собою право редакційної правки статей, яка не спотворює їх змісту, або повернення статті автору для виправлення виявлених дефектів. Статті, відіслані авторам на виправлення, слід повернути до редакції не пізніше ніж через три дні після одержання.

23. Датою надходження статті до журналу вважається день отримання редакцією остаточного варіанта тексту.

24. Коректури авторам не висилаються, проте, якщо це не порушує графік виходу журналу, мож-

ливе надання препринту, в якому допустиме виправлення лише помилок набору і фактажу.

25. Публікація матеріалів у «Одеському медичному журналі» платна. Оплата здійснюється після рецензування статей і схвалення їх до друку, про що авторів повідомляють додатково.

**З питань сплати за публікацію статей та довідок про їх надходження й опрацювання просимо звертатися до Віри Григорівни Ліхачової за тел. +38 (048) 728-54-58 (р.), +38 (097) 977-23-31 (м.), e-mail: vera@odmu.edu.ua.**

Копію квитанції про сплату слід надсилати поштою на адресу: Одеський національний медичний університет, редакція журналу (назва журналу), Валіховський пров., 2, м. Одеса, 65082 — або передавати на факс +38 (048) 723-22-15 для В. Г. Ліхачової.

26. Статті для публікації направляти за адресою: Одеський національний медичний університет, редакція «Одеського медичного журналу», Валіховський пров., 2, м. Одеса, 65082.

27. Статті, що не відповідають цим правилам, не розглядаються.

*Редакційна колегія*

### **Порядок рецензування рукописів наукових статей, які надходять для публікації в редакцію «Одеського медичного журналу»**

Наукові статті, які надходять для публікації в редакцію «Одеського медичного журналу», підлягають рецензуванню.

Рецензентами журналу є досвідчені фахівці — доктори наук, члени редколегії журналу та його редакційної ради. Коли є потреба, редакція залучає до рецензування сторонніх фахівців. Допускається публікація наукової статті за письмовим поданням членів редакційної колегії та редакційної ради.

Під час рецензування оцінюються відповідність статті тематиці журналу та її назві, актуальність і науковий рівень, достоїнства й недоліки, відповідність оформлення статті вимогам редакції. Наприкінці робиться висновок про доцільність публікації.

Рецензія надається автору статті на його запит без підпису, вказівки прізвища, посади і місця роботи рецензента.

Якщо рецензент рекомендує виправити або доопрацювати статтю, редакція відправляє автору

текст рецензії для внесення в роботу відповідних змін.

Автору, стаття якого не була прийнята до публікації, на його запит відправляється мотивована відповідь. Рукопис статті не повертається.

Якщо автор не згоден з думкою рецензента, він може дати мотивовану відповідь.

Коли є потреба, за погодженням з автором може бути проведено додаткове рецензування рукопису іншим фахівцем.

Остаточне рішення про публікацію статті та її терміни приймає редакційна колегія.

В окремих випадках за наявності позитивної рецензії можлива публікація статті за рішенням головного редактора або його заступника.

Після ухвалення рішення про публікацію статті редакція інформує про це автора з указанням терміну публікації.

Оригінали рецензій зберігаються в редакції протягом 1 року.





## “ODES’KIJ MEDIČNIJ ŽURNAL” (“The Odessa Medical Journal”)

### Information about Edition

“Odes’kij medičnij žurnal” (“The Odessa Medical Journal”) was founded in 1926. During a few years it was highly appreciated by scientists. The works of the famous scientists had been published there. But then, at the start of 30-s, the publication of the Journal was stopped. It was renewed only in 1997, and very soon the Journal won its authority again and took a proper place among other scientific editions of the country.

The founders of the Journal are the Ministry of Health of Ukraine and the Odessa National Medical University, the publisher — the Odessa National Medical University.

The editor-in-chief of the Journal since the time of its renewal is the academician of the NAMS of Ukraine, the Ukraine State Prize Winner V. M. Zaporozhan. The members of the editorial board and editorial council are the world-known scientists.

By decisions of Presidium of the Higher Attestation Commission of Ukraine N1-05/2 from the 27th of May, 2009 and N 1-05/5 from the 31st of May, 2011 “The Odessa Medical Journal” was included in the list of editions, which publish the basic results of dissertation works on medicine, biology and pharmacy. This fact determines the subject of its publications. About two hundred papers and reports are published in the Journal annually.

The Journal appears bimonthly. It comes to the most known libraries of the country, large scientific centers, some educational establishments. Its release is highly appraised outside of the country.

The Journal is distributed by subscription.

The Journal can be subscribed at any subscription point.

Subscription index — 48717.

## THE MANUAL OF ARTICLE STYLE FOR “ODES’KIJ MEDIČNIJ ŽURNAL” (“THE ODESSA MEDICAL JOURNAL”)

1. “Odes’kij medičnij žurnal” (“The Odessa Medical Journal”) publishes theoretical and review articles, which cover important achievements of science, results of completed original clinical and experimental researches, basic results of dissertations on medicine, biology and pharmacy, and also memorial materials.

2. Problem articles with total volume of up to 8 pages, reviews — up to 10 pages, original and other types of articles — up to 6 pages, short reports — up to 2 pages are submitted.

3. Articles, which have been already published in other editions or were submitted for publication to some editions at the same time, as well as the works which are a remake of the articles published before and do not contain new scientific material or new scientific comprehension of already known material are not submitted.

4. The following materials are published in the Journal:

a) results of original researches concerning main directions of development of medical, biological and pharmaceutical sciences;

b) works on fundamental problems in biology, medicine, pharmacology and pharmacy:

— genetics and applied aspects of medical genetics;

— biophysical and morphofunctional analysis of cells of an organism at different types of pathology;

— works on modern cellular technologies;

— the modern elaborations in the field of general and clinical pharmacology and pharmacy;

— achievements in the field of study of etiology, pathogenesis and diagnostics of modern diseases;

— prophylaxis of diseases, inoculation, prevention of especially dangerous diseases;

c) reviews on the modern actual problems of biology, medicine and pharmacy;

d) information, chronicle, anniversaries.

5. An article should be submitted to editorial in two copies, signed by all the authors. By their signatures the authors guarantee that the article meets all the requirements of the manual of the article style for “The Odessa Medical Journal”, experimental and clinical researches have been executed according to the international ethical norms of scientific researches, and also they give the publisher a right for publication of the article in the Journal, placing it and its materials on the Journal’s site and in other sources.

6. An article is accompanied with a letter to the editorial staff, vised signature of the chief and the seal of the establishment where the work was done, and for the home authors also by the expert inference, that authorizes the open publication.

7. If used in the article materials are intellectual property of some organizations and have not been published before, an author should get permission for their publication from each of these organizations and send it together with the article.

8. The text is printed with 1.5-spacing throughout the text on a standard paper (width of fields: on the left, above and below by 2 cm, on the right — 1 cm) in Arial (Arial Cyr) or Times (Times Cyr) 14 points. The page of the text should contain no more than 30 lines.





9. The language of the articles is Ukrainian for home authors, Russian and English for foreign authors.

10. The material of the article should be placed in the following order:

- a) UDC index;
- b) initials and the last name of the author (authors);
- c) title of the article;
- d) a complete name of the establishment (establishments) where the work was done, city, country;
- e) statement of a problem in general and its connection with important scientific and practical tasks;
- f) analysis of the modern researches and publications, in which the given problem was initiated and which the author is guided by;
- g) pointing out the parts of general problem which were not resolved before;
- h) formulation of the aim of the article (raising a task);
- i) statement of the basic material with complete substantiation of obtained scientific results;
- j) conclusions from the given research and perspectives of subsequent works in this direction;
- k) references;
- l) two abstracts — in Russian up to 800 printing letters (0.45 page) and in English up to 1800 printing letters (1 page) after the following scheme: UDC index, initials and the last name of author (authors), title of the article, text of the abstract, key words (no more than five).

11. The abstract in English should shortly reproduce the structure of the article, including introduction, purpose and task, methods, results, conclusions, key words. Initials and the last name of author (authors) are given in transliteration, the title of the article must be translated into English. The key words and other terms of the article should correspond to generally used medical terms cited in dictionaries. One should not use slang and abbreviations which are not in general use.

12. The chemical and mathematical formulas are printed or put down. The structural formulas are designed as figures. In formulas there are marked out: small and large letters (large ones by two hyphens from below, small ones — by two hyphens from above by a lead pencil); the Latin letters are underlined with a dark blue pencil; Greek ones — with a red pencil; subscript and superscript letters — by an arc line with a lead pencil.

13. The International System of Units (SI) should be used in the articles.

14. Figures (no more than two) and signatures to them are made separately. On the back side of every figure by a lead pencil one should indicate its number and title of the articles, and if necessary to note a top and bottom.

15. The tables (no more than three) should be placed on separate pages, be numbered and titled. The marginal notes should indicate the place of figures and tables. The information given in tables and figures must not be duplicated.

16. The references must contain the list of works for the last 5 years and only sometimes — more early publications. In the original works they quote no more than 10 sources, in the reviews — about 30. Every work in the literature list should be referred in the manuscript. The literature in the list is ordered according to reference to it in the text of the article, which is given in the square brackets, or after the alphabet. If the works of one and the same author are presented, they take place after the chronological order. The references shouldn't contain works, which have not been published yet.

17. The list is given in duplicate for every copy of the article, which are published separately one from another. The first copy is designed according to DSTU GOST 7.1:2006. The other one — fully duplicates the first one, but by the Roman alphabet after the schemes given below.

**For articles:**

Author A.A., Author B.B., Author C.C. Title of article. *Title of Journal* 2005; 5(129): 49-53.

The last names of authors and title of the Journal are given by the Roman alphabet in transliteration, title of the article — in translation into English.

**For materials of conferences:**

Riabinina, A.A., Berezina, E.V., Usol'tseva, N.V. Surface Tension and Lyotropic Mesomorphism in Systems Consisting of Nonionogenic Surfactant and Water, *Liotropnye zhidkie kristally and nanomaterialy: sbornik statei VII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii* (Lyotropic Liquid Crystals and Nanomaterials: Proceedings of the Seventh International Conference), Ivanovo: Ivanovskii Gos. Univ., 2009, 73-75.

The last names of authors are given in transliteration, title of the work — in translation into English. The main thing in descriptions of conferences is the name of conference in the language of original (is given in transliteration if there is not its English name), indicated by italic. Translation of the name into English is given in brackets. Imprint (place of holding a conference, place of publication, year, pages) — in English.

**For monographs and other books:**

Nenashev M.F. *Poslednee pravitel'stvo SSSR* [Last government of the USSR]. Moscow, KromPubl., 1993. 221 p.

The last names of authors are given in transliteration, title of the book — in italic in transliteration with translated into English in the square brackets. Place of publication, year of publication, total number of pages — English, name of publishing house — in transliteration.

**Please, note:** in the references in the Roman alphabet it is necessary to indicate all the authors of the literary source, which you refer to (DSTU GOST of 7.1:2006 does not provide it). Also one should not use the signs of division: // and —, which are provided by DSTU GOST of 7.1:2006. The name of the source (Journal, conference, book) is always indicated by italic.

The observance of these rules will provide the true representation of quoted sources in the majority of abstract scientometrical databases.

18. Abbreviations of words and word combinations are given according to DSTU 3582-97 and GOST 7.12-93.

For those who have no access to the complete DSTU text, there are examples of bibliographic records registration on the site of the Odessa Medical University. Access by link: <http://odmu.edu.ua/index.php?v=1179>.

19. Information about authors, which contains academic status and degree, the last name, name and patronymic (in a full form), place of work and occupation, address for correspondence, telephones and faxes numbers, e-mail address are added to the article on a separate sheet of paper in the language of original and English.

20. The published materials executed with the use of computer technologies, are added by materials of computer type-setting and graphic on a diskette (CD, DVD).

The text can be done in the following formats: Word for Windows, RTF (Reach Text Format).



Graphic material should be submitted in separate files of the XLS, TIFF, WMF or CDR formats. Resolution of stroke originals (the graphics, schemes) of the TIFF formats must be 300–600 dpi B&W, semitone (pictures, etc.) — 200–300 dpi Gray Scale (256 gradations of gray). Width of graphic originals — 5.5, 11.5 and 17.5 cm.

21. Articles are subjected to scientific reviewing, as a result of which the decision about the work is taken whether to publish it or not. The rejected articles are not returned and are not resubmitted.

22. The Journal reserves the right for editorial correcting, which does not distort its contents, or returns an article to the author for correction of revealed errors. The articles sent to the authors for correction, should be sent back no later than in three days after being received by authors.

23. The date of article's coming to the Journal is the day when editorial office receives the final variant of the text.

24. Proof-reading are not sent to the authors, however if it does not disturb the term of Journal release, a preprint version can be provided, in which only typesetting and factual mistakes can be corrected.

25. The publication of materials in "The Odessa Medical Journal" requires payment. Payment is made after reading articles and approval of them to printing, about which the authors are informed additionally.

26. The articles for the publication are sent to the address: the Odessa National Medical University, editorial staff of "Odes'kij medicnij žurnal", Valikhovskyy lane, 2, Odessa, 65082.

Other contacts are:

**fax:** +380 48 723-22-15 for V. G. Likhachova;

**phone:** +380 48 728-54-58, +380 97 977-23-31;

**e-mail:** vera@odmu.edu.ua

27. The articles that do not conform to these rules, are not submitted.

**Editorial board**

## Manuscripts Reviewing Order

Scientific articles submitted to "Odes'kij medicnij žurnal" ("The Odessa Medical Journal") need reviewing.

Reviewers of the Journal are experienced specialists — doctors of sciences, members of the editorial board and editorial council of the Journal. If necessary the editors enlist cooperation of outside experts. The scientific article publication is possible after the writing presentation of editorial members.

The reviews should estimate if the article corresponds to the subject of the Journal and its title, actuality and scientific level, advantages and disadvantages, correspondance of the article design to the editorial requirements. The conclusion about advisability of publication is drawn in the end.

A review is given to the author of the article on his demand without signature, pointing the last name, occupation and places of the work of a reviewer.

If the reviewer recommends to correct or complete the article, the editorial staff sends the re-

view text to the author for inserting proper changes in.

The author, whose article was not submitted to the publication, is sent an reasonable refuse on his demand. The manuscript is not returned.

If the author does not agree with a reviewer's point of view, he can give him a reasonable answer.

In case of necessity an additional reading of manuscript by another specialist can be carried out on agreement with the author.

A final decision about the publication of the article and its terms is made by the editorial board.

Sometimes in case of a positive review the article can be published after the editor-in-chief's or vice-editor-in-chief's decision.

After approval of the article publication the editorial staff informs the author about it with indicating the term of publication.

Originals of reviews are kept in the editorial during 1 year.



# ODES'KIJ MEDICĀNIJ ŽURNAL

FOUNDED IN 1926 • REFOUNDED IN 1997

## *Founders*

The Ministry of Health of Ukraine

The Odessa National Medical University

## *Editor-in-chief*

Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine,  
the Ukraine State Prize Winner

V. M. ZAPOROZHAN

## *Editorial Board*

M. L. Aryayev, V. V. Babiyyenko, Yu. I. Bazhora, V. S. Bitensky, V. O. Gelmboldt, L. S. Godlevsky, V. V. Godovan, M. Ya. Golovenko, A. G. Gulyuk, B. S. Zaporozhchenko, O. V. Zaporozhchenko, V. Y. Kresyun (*vice-editor-in-chief*), O. O. Mardashko, A. Ye. Polyakov, V. O. Polyasny, Ya. V. Rozhkovsky, N. O. Romanova (*executive secretary*), V. O. Sytnikova, O. A. Shandra

## *Editorial Council*

P.-A. Abrahamsson – Lund University Hospital (Sweden), S. A. Andronati – O. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NAS of Ukraine (Odessa, Ukraine), V. V. Bezrukov – D. F. Chebotaryov State Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine (Kyiv, Ukraine), G. M. Butenko – State Institute of Genetic and Regenerative Medicine of the NAMS of Ukraine (Kyiv, Ukraine), I. I. Guk – University of Vienna (Austria), Y. Zhang – Institute of Biomedical Technologies (Hunan, China), Yu. O. Zozulya – A. P. Romodanov Institute of Neurosurgery of the NAMS of Ukraine (Kyiv, Ukraine), A. D. Klisarova – Varna University of Medicine (Bulgaria), G. V. Knyshov – M. M. Amosov National Institute of Cardiovascular Surgery of the NAMS of Ukraine (Kyiv, Ukraine), M. P. Landini – University of Bologna (Italy), S. B. Seredenin – V. V. Zakusov Institute of Pharmacology of the RAMS (Moscow, Russia), S. D. Trachtenberg – George Washington University (Washington, USA), D. Wheatley – Aberdeen University (Great Britain), R. Huss – University of Munich (Germany), V. Ciupina – Ovidius University of Constanta (Romania)



# 2014



	Січень	Лютий	Березень
Пн	6 13 20 27	3 10 17 24	3 10 17 24 31
Вт	7 14 21 28	4 11 18 25	4 11 18 25
Ср	1 8 15 22 29	5 12 19 26	5 12 19 26
Чт	2 9 16 23 30	6 13 20 27	6 13 20 27
Пт	3 10 17 24 31	7 14 21 28	7 14 21 28
Сб	4 11 18 25	1 8 15 22	1 8 15 22 29
Нд	5 12 19 26	2 9 16 23	2 9 16 23 30

	Квітень	Травень	Червень
Пн	7 14 21 28	5 12 19 26	2 9 16 23 30
Вт	1 8 15 22 29	6 13 20 27	3 10 17 24
Ср	2 9 16 23 30	7 14 21 28	4 11 18 25
Чт	3 10 17 24	1 8 15 22 29	5 12 19 26
Пт	4 11 18 25	2 9 16 23 30	6 13 20 27
Сб	5 12 19 26	3 10 17 24 31	7 14 21 28
Нд	6 13 20 27	4 11 18 25	1 8 15 22 29

	Липень	Серпень	Вересень
Пн	7 14 21 28	4 11 18 25	1 8 15 22 29
Вт	1 8 15 22 29	5 12 19 26	2 9 16 23 30
Ср	2 9 16 23 30	6 13 20 27	3 10 17 24
Чт	3 10 17 24 31	7 14 21 28	4 11 18 25
Пт	4 11 18 25	1 8 15 22 29	5 12 19 26
Сб	5 12 19 26	2 9 16 23 30	6 13 20 27
Нд	6 13 20 27	3 10 17 24 31	7 14 21 28

	Жовтень	Листопад	Грудень
Пн	6 13 20 27	3 10 17 24	1 8 15 22 29
Вт	7 14 21 28	4 11 18 25	2 9 16 23 30
Ср	1 8 15 22 29	5 12 19 26	3 10 17 24 31
Чт	2 9 16 23 30	6 13 20 27	4 11 18 25
Пт	3 10 17 24 31	7 14 21 28	5 12 19 26
Сб	4 11 18 25	1 8 15 22 29	6 13 20 27
Нд	5 12 19 26	2 9 16 23 30	7 14 21 28

