

GEORGIAN MEDICAL NEWS

ISSN 1512-0112

№ 12 (249) Декабрь 2015

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

GEORGIAN MEDICAL NEWS

No 12 (249) 2015

Published in cooperation with and under the patronage
of the Tbilisi State Medical University

Издается в сотрудничестве и под патронажем
Тбилисского государственного медицинского университета

გამოიცემა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტთან
თანამშრომლობითა და მისი პატრონაჟით

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ
ТБИЛИСИ - НЬЮ-ЙОРК

GMN: Georgian Medical News is peer-reviewed, published monthly journal committed to promoting the science and art of medicine and the betterment of public health, published by the GMN Editorial Board and The International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (U.S.A.) since 1994. **GMN** carries original scientific articles on medicine, biology and pharmacy, which are of experimental, theoretical and practical character; publishes original research, reviews, commentaries, editorials, essays, medical news, and correspondence in English and Russian.

GMN is indexed in MEDLINE, SCOPUS, PubMed and VINITI Russian Academy of Sciences. The full text content is available through EBSCO databases.

GMN: Медицинские новости Грузии - ежемесячный рецензируемый научный журнал, издаётся Редакционной коллегией и Международной академией наук, образования, искусств и естествознания (IASEIA) США с 1994 года на русском и английском языках в целях поддержки медицинской науки и улучшения здравоохранения. В журнале публикуются оригинальные научные статьи в области медицины, биологии и фармации, статьи обзорного характера, рецензии, научные сообщения, новости медицины и здравоохранения.

Журнал индексируется в MEDLINE, отражён в базе данных SCOPUS, PubMed и ВИНТИ РАН. Полнотекстовые статьи журнала доступны через БД EBSCO.

GMN: Georgian Medical News – საქართველოს სამედიცინო სიახლენი – არის ყოველთვიური სამეცნიერო სამედიცინო რეცენზირებადი ჟურნალი, გამოიცემა 1994 წლიდან, წარმოადგენს სარედაქციო კოლეგიისა და აშშ-ის მეცნიერების, განათლების, ინდუსტრიის, ხელოვნებისა და ბუნებისმეტყველების საერთაშორისო აკადემიის ერთობლივ გამოცემას. GMN-ში რუსულ და ინგლისურ ენებზე ქვეყნდება ექსპერიმენტული, თეორიული და პრაქტიკული ხასიათის ორიგინალური სამეცნიერო სტატიები მედიცინის, ბიოლოგიისა და ფარმაციის სფეროში, მიმოხილვითი ხასიათის სტატიები, რეცენზიები.

ჟურნალი ინდექსირებულია MEDLINE-ის საერთაშორისო სისტემაში, ასახულია SCOPUS-ის, PubMed-ის და ВИНТИ РАН-ის მონაცემთა ბაზებში. სტატიების სრული ტექსტი ხელმისაწვდომია EBSCO-ს მონაცემთა ბაზებშიდან.

МЕДИЦИНСКИЕ НОВОСТИ ГРУЗИИ

Ежемесячный совместный грузино-американский научный электронно-печатный журнал
Агентства медицинской информации Ассоциации деловой прессы Грузии,
Академии медицинских наук Грузии, Международной академии наук, индустрии,
образования и искусств США.
Издается с 1994 г., распространяется в СНГ, ЕС и США

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

Лаури Манагадзе

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Нино Микаберидзе

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Зураб Вадачкориа - председатель Научно-редакционного совета

Михаил Бахмутский (США), Александр Геннинг (Германия), Амиран Гамкрелидзе (Грузия),
Константин Кипиани (Грузия), Георгий Кавтарадзе (Грузия), Георгий Камкамидзе (Грузия),
Паата Куртанидзе (Грузия), Вахтанг Масхулия (Грузия), Тамара Микаберидзе (Грузия),
Тенгиз Ризнис (США), Реваз Сепиашвили (Грузия), Дэвид Элуа (США)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Лаури Манагадзе - председатель Научно-редакционной коллегии

Архимандрит Адам - Вахтанг Ахаладзе, Амиран Антадзе, Нелли Антелава, Тенгиз Асатиани,
Рима Бериашвили, Лео Бокерия, Отар Герзмава, Лиана Гогиашвили, Нодар Гогебашвили,
Николай Гонгадзе, Манана Жвания, Ирина Квачадзе, Нана Квирквелия, Зураб Кеванишвили,
Гурам Кикнадзе, Палико Кинтраиа, Теймураз Лежава, Джанлуиджи Мелотти, Караман Пагава,
Николай Пирцхалаишвили, Мамука Пирцхалаишвили, Фридон Тодуа,
Кеннет Уолкер, Рамаз Хецуриани, Рудольф Хохенфеллнер, Кахабер Челидзе,
Тинатин Чиковани, Арчил Чхотуа, Рамаз Шенгелия

Website:

www.geomednews.org

The International Academy of Sciences, Education, Industry & Arts. P.O.Box 390177,
Mountain View, CA, 94039-0177, USA. Tel/Fax: (650) 967-4733

Версия: печатная. **Цена:** свободная.

Условия подписки: подписка принимается на 6 и 12 месяцев.

По вопросам подписки обращаться по тел.: 293 66 78.

Контактный адрес: Грузия, 0177, Тбилиси, ул. Асатиани 7, III этаж, комната 313
тел.: 995(32) 254 24 91, 995(32) 222 54 18, 995(32) 253 70 58

Fax: +995(32) 253 70 58, e-mail: ninomikaber@hotmail.com; nikopir@dgmholding.com

По вопросам размещения рекламы обращаться по тел.: 5(99) 97 95 93

© 2001. Ассоциация деловой прессы Грузии

© 2001. The International Academy of Sciences,
Education, Industry & Arts (USA)

GEORGIAN MEDICAL NEWS

Monthly Georgia-US joint scientific journal published both in electronic and paper formats of the Agency of Medical Information of the Georgian Association of Business Press; Georgian Academy of Medical Sciences; International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (USA).

Published since 1994. Distributed in NIS, EU and USA.

SCIENTIFIC EDITOR

Lauri Managadze

EDITOR IN CHIEF

Nino Mikaberidze

SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL

Zurab Vadachkoria - Head of Editorial council

Michael Bakhmutsky (USA), Alexander Gënning (Germany), Amiran Gamkrelidze (Georgia), David Elua (USA), Konstantin Kipiani (Georgia), Giorgi Kavtaradze (Georgia), Giorgi Kamkamidze (Georgia), Paata Kurtanidze (Georgia), Vakhtang Maskhulia (Georgia), Tamara Mikaberidze (Georgia), Tengiz Riznis (USA), Revaz Sepiashvili (Georgia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

Lauri Managadze - Head of Editorial board

Archimandrite Adam - Vakhtang Akhaladze, Amiran Antadze, Nelly Antelava, Tengiz Asatiani, Rima Beriashvili, Leo Bokeria, Kakhaber Chelidze, Tinatin Chikovani, Archil Chkhotua, Otar Gerzmava, Liana Gogiashvili, Nodar Gogebashvili, Nicholas Gongadze, Rudolf Hohenfellner, Zurab Kevanishvili, Ramaz Khetsuriani, Guram Kiknadze, Paliko Kintraia, Irina Kvachadze, Nana Kvirkevelia, Teymuraz Lezhava, Gianluigi Melotti, Kharaman Pagava, Nicholas Pirtskhalaishvili, Mamuka Pirtskhalaishvili, Ramaz Shengelia, Pridon Todua, Kenneth Walker, Manana Zhvania

CONTACT ADDRESS IN TBILISI

GMN Editorial Board
7 Asatiani Street, 3th Floor
Tbilisi, Georgia 0177

Phone: 995 (32) 254-24-91
995 (32) 222-54-18
995 (32) 253-70-58
Fax: 995 (32) 253-70-58

CONTACT ADDRESS IN NEW YORK

NINITEX INTERNATIONAL, INC.
3 PINE DRIVE SOUTH
ROSLYN, NY 11576 U.S.A.

Phone: +1 (917) 327-7732

WEBSITE

www.geomednews.org

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила:

1. Статья должна быть представлена в двух экземплярах, на русском или английском языках, напечатанная через **полтора интервала на одной стороне стандартного листа с шириной левого поля в три сантиметра**. Используемый компьютерный шрифт для текста на русском и английском языках - **Times New Roman (Кириллица)**, для текста на грузинском языке следует использовать **AcadNusx**. Размер шрифта - **12**. К рукописи, напечатанной на компьютере, должен быть приложен CD со статьей.

2. Размер статьи должен быть не менее десяти и не более двадцати страниц машинописи, включая указатель литературы и резюме на английском, русском и грузинском языках.

3. В статье должны быть освещены актуальность данного материала, методы и результаты исследования и их обсуждение.

При представлении в печать научных экспериментальных работ авторы должны указывать вид и количество экспериментальных животных, применявшиеся методы обезболивания и усыпления (в ходе острых опытов).

4. К статье должны быть приложены краткое (на полстраницы) резюме на английском, русском и грузинском языках (включающее следующие разделы: цель исследования, материал и методы, результаты и заключение) и список ключевых слов (key words).

5. Таблицы необходимо представлять в печатной форме. Фотокопии не принимаются. **Все цифровые, итоговые и процентные данные в таблицах должны соответствовать таковым в тексте статьи**. Таблицы и графики должны быть озаглавлены.

6. Фотографии должны быть контрастными, фотокопии с рентгенограмм - в позитивном изображении. Рисунки, чертежи и диаграммы следует озаглавить, пронумеровать и вставить в соответствующее место текста **в tiff формате**.

В подписях к микрофотографиям следует указывать степень увеличения через окуляр или объектив и метод окраски или импрегнации срезов.

7. Фамилии отечественных авторов приводятся в оригинальной транскрипции.

8. При оформлении и направлении статей в журнал МНГ просим авторов соблюдать правила, изложенные в «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», принятых Международным комитетом редакторов медицинских журналов - <http://www.spinesurgery.ru/files/publish.pdf> и http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html В конце каждой оригинальной статьи приводится библиографический список. В список литературы включаются все материалы, на которые имеются ссылки в тексте. Список составляется в алфавитном порядке и нумеруется. Библиографическое описание литературы составляется на языке текста документа. В списке литературы сначала приводятся работы, написанные знаками грузинского алфавита, затем кириллицей и латиницей. Ссылки на цитируемые работы в тексте статьи даются в квадратных скобках в виде номера, соответствующему номеру данной работы в списке литературы.

9. Для получения права на публикацию статья должна иметь от руководителя работы или учреждения визу и сопроводительное отношение, написанные или напечатанные на бланке и заверенные подписью и печатью.

10. В конце статьи должны быть подписи всех авторов, полностью приведены их фамилии, имена и отчества, указаны служебный и домашний номера телефонов и адреса или иные координаты. Количество авторов (соавторов) не должно превышать пяти человек.

11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять статьи. Корректурa авторам не высылается, вся работа и сверка проводится по авторскому оригиналу.

12. Недопустимо направление в редакцию работ, представленных к печати в иных издательствах или опубликованных в других изданиях.

При нарушении указанных правил статьи не рассматриваются.

REQUIREMENTS

Please note, materials submitted to the Editorial Office Staff are supposed to meet the following requirements:

1. Articles must be provided with a double copy, in English or Russian languages and typed or computer-printed on a single side of standard typing paper, with the left margin of **3** centimeters width, and **1.5** spacing between the lines, typeface - **Times New Roman (Cyrillic)**, print size - **12** (referring to Georgian and Russian materials). With computer-printed texts please enclose a CD carrying the same file titled with Latin symbols.

2. Size of the article, including index and resume in English, Russian and Georgian languages must be at least 10 pages and not exceed the limit of 20 pages of typed or computer-printed text.

3. Submitted material must include a coverage of a topical subject, research methods, results, and review.

Authors of the scientific-research works must indicate the number of experimental biological species drawn in, list the employed methods of anesthetization and soporific means used during acute tests.

4. Articles must have a short (half page) abstract in English, Russian and Georgian (including the following sections: aim of study, material and methods, results and conclusions) and a list of key words.

5. Tables must be presented in an original typed or computer-printed form, instead of a photocopied version. **Numbers, totals, percentile data on the tables must coincide with those in the texts of the articles.** Tables and graphs must be headed.

6. Photographs are required to be contrasted and must be submitted with doubles. Please number each photograph with a pencil on its back, indicate author's name, title of the article (short version), and mark out its top and bottom parts. Drawings must be accurate, drafts and diagrams drawn in Indian ink (or black ink). Photocopies of the X-ray photographs must be presented in a positive image in **tiff format**.

Accurately numbered subtitles for each illustration must be listed on a separate sheet of paper. In the subtitles for the microphotographs please indicate the ocular and objective lens magnification power, method of coloring or impregnation of the microscopic sections (preparations).

7. Please indicate last names, first and middle initials of the native authors, present names and initials of the foreign authors in the transcription of the original language, enclose in parenthesis corresponding number under which the author is listed in the reference materials.

8. Please follow guidance offered to authors by The International Committee of Medical Journal Editors guidance in its Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals publication available online at: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html
http://www.icmje.org/urm_full.pdf

In GMN style for each work cited in the text, a bibliographic reference is given, and this is located at the end of the article under the title "References". All references cited in the text must be listed. The list of references should be arranged alphabetically and then numbered. References are numbered in the text [numbers in square brackets] and in the reference list and numbers are repeated throughout the text as needed. The bibliographic description is given in the language of publication (citations in Georgian script are followed by Cyrillic and Latin).

9. To obtain the rights of publication articles must be accompanied by a visa from the project instructor or the establishment, where the work has been performed, and a reference letter, both written or typed on a special signed form, certified by a stamp or a seal.

10. Articles must be signed by all of the authors at the end, and they must be provided with a list of full names, office and home phone numbers and addresses or other non-office locations where the authors could be reached. The number of the authors (co-authors) must not exceed the limit of 5 people.

11. Editorial Staff reserves the rights to cut down in size and correct the articles. Proof-sheets are not sent out to the authors. The entire editorial and collation work is performed according to the author's original text.

12. Sending in the works that have already been assigned to the press by other Editorial Staffs or have been printed by other publishers is not permissible.

**Articles that Fail to Meet the Aforementioned
Requirements are not Assigned to be Reviewed.**

ავტორთა საქურაღებოლ!

რედაქციაში სტატიის წარმოდგენისას საჭიროა დაიცვათ შემდეგი წესები:

1. სტატია უნდა წარმოადგინოთ 2 ცალად, რუსულ ან ინგლისურ ენებზე დაბეჭდილი სტანდარტული ფურცლის 1 გვერდზე, 3 სმ სიგანის მარცხენა ველისა და სტრიქონებს შორის 1,5 ინტერვალის დაცვით. გამოყენებული კომპიუტერული შრიფტი რუსულ და ინგლისურენოვან ტექსტებში - **Times New Roman (Кириллица)**, ხოლო ქართულენოვან ტექსტში საჭიროა გამოვიყენოთ **AcadNusx**. შრიფტის ზომა – 12. სტატიას თან უნდა ახლდეს CD სტატიით.

2. სტატიის მოცულობა არ უნდა შეადგენდეს 10 გვერდზე ნაკლებს და 20 გვერდზე მეტს ლიტერატურის სიის და რეზიუმეების (ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე) ჩათვლით.

3. სტატიაში საჭიროა გაშუქდეს: საკითხის აქტუალობა; კვლევის მიზანი; საკვლევი მასალა და გამოყენებული მეთოდები; მიღებული შედეგები და მათი განსჯა. ექსპერიმენტული ხასიათის სტატიების წარმოდგენისას ავტორებმა უნდა მიუთითონ საექსპერიმენტო ცხოველების სახეობა და რაოდენობა; გაუტკივარებისა და დაძინების მეთოდები (მწვავე ცდების პირობებში).

4. სტატიას თან უნდა ახლდეს რეზიუმე ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე არანაკლებ ნახევარი გვერდის მოცულობისა (სათაურის, ავტორების, დაწესებულების მითითებით და უნდა შეიცავდეს შემდეგ განყოფილებებს: მიზანი, მასალა და მეთოდები, შედეგები და დასკვნები; ტექსტუალური ნაწილი არ უნდა იყოს 15 სტრიქონზე ნაკლები) და საკვანძო სიტყვების ჩამონათვალი (key words).

5. ცხრილები საჭიროა წარმოადგინოთ ნაბეჭდი სახით. ყველა ციფრული, შემაჯამებელი და პროცენტული მონაცემები უნდა შეესაბამებოდეს ტექსტში მოყვანილს.

6. ფოტოსურათები უნდა იყოს კონტრასტული; სურათები, ნახაზები, დიაგრამები - დასათაურებული, დანომრილი და სათანადო ადგილას ჩასმული. რენტგენოგრაფიების ფოტოასლები წარმოადგინეთ პოზიტიური გამოსახულებით **tiff** ფორმატში. მიკროფოტოსურათების წარწერებში საჭიროა მიუთითოთ ოკულარის ან ობიექტივის საშუალებით გადიდების ხარისხი, ანათალებების შედეგების ან იმპრეგნაციის მეთოდი და აღნიშნოთ სურათის ზედა და ქვედა ნაწილები.

7. სამამულო ავტორების გვარები სტატიაში აღინიშნება ინიციალების თანდართვით, უცხოურისა – უცხოური ტრანსკრიპციით.

8. სტატიას თან უნდა ახლდეს ავტორის მიერ გამოყენებული სამამულო და უცხოური შრომების ბიბლიოგრაფიული სია (ბოლო 5-8 წლის სიღრმით). ანბანური წყობით წარმოდგენილ ბიბლიოგრაფიულ სიაში მიუთითეთ ჯერ სამამულო, შემდეგ უცხოელი ავტორები (გვარი, ინიციალები, სტატიის სათაური, ჟურნალის დასახელება, გამოცემის ადგილი, წელი, ჟურნალის №, პირველი და ბოლო გვერდები). მონოგრაფიის შემთხვევაში მიუთითეთ გამოცემის წელი, ადგილი და გვერდების საერთო რაოდენობა. ტექსტში კვადრატულ ფხიხლებში უნდა მიუთითოთ ავტორის შესაბამისი N ლიტერატურის სიის მიხედვით.

9. სტატიას თან უნდა ახლდეს: ა) დაწესებულების ან სამეცნიერო ხელმძღვანელის წარდგინება, დამოწმებული ხელმოწერითა და ბეჭდით; ბ) დარგის სპეციალისტის დამოწმებული რეცენზია, რომელშიც მითითებული იქნება საკითხის აქტუალობა, მასალის საკმაობა, მეთოდის სანდოობა, შედეგების სამეცნიერო-პრაქტიკული მნიშვნელობა.

10. სტატიის ბოლოს საჭიროა ყველა ავტორის ხელმოწერა, რომელთა რაოდენობა არ უნდა აღემატებოდეს 5-ს.

11. რედაქცია იტოვებს უფლებას შეასწოროს სტატია. ტექსტზე მუშაობა და შეჯერება ხდება საავტორო ორიგინალის მიხედვით.

12. დაუშვებელია რედაქციაში ისეთი სტატიის წარდგენა, რომელიც დასაბეჭდად წარდგენილი იყო სხვა რედაქციაში ან გამოქვეყნებული იყო სხვა გამოცემებში.

აღნიშნული წესების დარღვევის შემთხვევაში სტატიები არ განიხილება.



Our team at the international journal “Georgian Medical News” is wishing you Merry Christmas and a Joyous New Year filled with remarkable scientific achievements and success! We are grateful for your continued support and partnership and look forward to working with you in the years to come. This Holiday Season is always connected with new hopes. We hope to continue providing an effective international platform for discussion of health issues and related disciplines.

Коллектив сотрудников международного журнала «Медицинские новости Грузии» поздравляет авторов и читателей с Рождеством Христовым и наступающим Новым 2016 годом! Желаем вам творческих успехов и научных достижений. Новый год – это всегда надежда. Надеемся, что журнал «Медицинские новости Грузии» продолжит быть эффективной платформой для обсуждения актуальных проблем медицины, здравоохранения и смежных дисциплин и пользоваться интересом международного научного сообщества.

საერთაშორისო სამეცნიერო ჟურნალ «საქართველოს სამედიცინო სიახლენის» კოლექტივი გილოცავთ შობის ბრწყინვალე დღესასწაულს და ახალ **2016** წელს! მაღლობა გვინდა ვუთხრათ ჩვენს ავტორებს და მკითხველებს თანამშრომლობისა და თანადგომისათვის. ახალი წელი სიახლესა და იმედთან ასოცირდება, ჩვენც ვიმედოვნებთ, რომ დამდეგი წელი სამეცნიერო წარმატების, სიუხვის და სიკეთის მომტანი იქნება.

Содержание:

Saker Z., Tsintsadze O., Jiqia I., Managadze L., Chkhotua A. IMPORTANCE OF APOPTOSIS MARKERS (MDM2, BCL-2 AND Bax) IN BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA AND PROSTATE CANCER.....	7
Zhvania G., Mshvildadze Sh., Ujmajuridze A., Chanturaia Z., Managadze L. THE USE OF BOWEL FOR BILATERAL URETER SUBSTITUTION: A CASE REPORT AND REVIEW OF LITERATURE	14
Shoshiashvili V., Tataradze A., Beglarishvili L., Managadze L., Chkhotua A. INFLUENCE OF TYPE OF ANESTHESIA ON HEMODYNAMIC PARAMETERS AND OUTCOME OF DIALYSIS ARTERIOVENOUS FISTULA OPERATIONS	20
Saker Z., Tsintsadze O., Jiqia I., Managadze L., Chkhotua A. IMPORTANCE OF APOPTOSIS MARKERS (MDM2, BCL-2 AND Bax) IN CONVENTIONAL RENAL CELL CARCINOMA.....	27
Khelaia A., Saker Z., Tsintsadze O., Managadze L. NONOBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA, FOLLICLE-STIMULATING HORMONE AS A MARKER OF SUCCESSFUL SPERM RETRIEVAL	34
Urushadze O., Mtvaradze A., Nemsadze G., Liparteliani N. PARTIAL ANOMALOUS PULMONARY VENOUS CONNECTION WITH INTACT ATRIAL SEPTUM: A CASE REPORT	37
Ozbek C., Sever K., Demirhan O., Mansuroglu D., Kurtoglu N., Ugurlucan M., Sevmis S., Karakayali H. MID TERM RESULTS AFTER OPEN HEART SURGERY IN HEMODIALYSIS PATIENTS AWAITING KIDNEY TRANSPLANT: DOES CARDIOVASCULAR SURGICAL INTERVENTION PRIOR TO TRANSPLANTATION PROLONG SURVIVAL?.....	42
Шинкевич В.И., Удальцова К.А., Писаренко Е.А., Коломиец С.В., Хмиль Т.А. СИМПТОМАТИЧЕСКИЙ ГИПЕРТРОФИЧЕСКИЙ ГИНГИВИТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	52
Кадыкова О.И., Кравчун П.Г., Рындина Н.Г., Габисония Т.Н., Молотягин Д.Г. ПОЛИМОРФИЗМ Gln27Glu ГЕНА β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ОЖИРЕНИЯ.....	59
Дралова А.А., Усачева Е.В. НЕКОТОРЫЕ КЛИНИКО-ЦИТОКИНОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ РЕКУРРЕНТНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ НА ФОНЕ ТОКСОКАРОЗНОЙ ИНВАЗИИ.....	62
Nachkebia N., Maglakelidze N., Chijavadze E., Chkhartishvili E., Babilodze M. HYPOTHALAMIC OREXINE SYSTEM ACCELERATES REGULATION OF SLEEP HOMEOSTASIS AND SLEEP-WAKEFULNESS CYCLE RECOVERY FROM BARBITURATE ANESTHESIA-INDUCED ARTIFICIAL SLEEP.....	67
Beisenayeva A., Cialkowska-Rysz A., Zhumaliyeva V., Omarova I., Kabildina N., Sirota V. THE IMPORTANCE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES IN THE DIAGNOSIS OF CANCER OF UNKNOWN PRIMARY ORIGIN.....	73

Джоджуа Н.Н., Гонгадзе Н.В., Митагвария Н.П. РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА И РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В ПОДДЕРЖАНИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА В ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА	80
Sikora V., Vojko V., Tkach G., Kuptenko L., Lyndin M. STRUCTURAL CHANGES IN SUBMANDIBULAR SALIVARY GLAND, CAUSED BY HEAVY METAL SALTS, AND THEIR CORRECTION WITH DIALIPON (EXPERIMENTAL STUDY)	85
Агаджанова Е.М. НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЭМБРИОНАЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО МОДУЛЯТОРА МКРТЧЯНА ПУТЕМ АКТИВАЦИИ ЕГО МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА.....	92
Амиранидзе М.В., Сумбадзе Ц.М., Сихарулидзе И.Т., Гвидани С.А., Маркарян С.А. ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ НА СЕЛЕЗЕНКЕ – ГИСТО- УЛЬТРАСТРУКТУРА ОРГАНА	99

IMPORTANCE OF APOPTOSIS MARKERS (MDM2, BCL-2 AND Bax) IN BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA AND PROSTATE CANCER

²Saker Z., ²Tsintsadze O., ³Jiqia I., ¹Managadze L., ¹Chkhotua A.

¹A. Tsulukidze National Centre of Urology, ²Department of Urology, ²Department of Pathology;
³Scientific and Practical Center of Clinical Pathology, Tbilisi, Georgia

The management of patients with prostate cancer (PCa) depends on an accurate assessment of the biological potential of the tumor. Unfortunately the current examination techniques are mostly inadequate for correct clinical staging and assessment of the tumor grade may vary substantially due to subjectivity of the observer [7]. Therefore, the search for additional prognosticators of the cancer behavior is the subject of intense ongoing investigation. The mechanisms by which castration refractory cancer (CRPCa) develops and progresses still are not completely understood. Despite the new treatment approaches it remains an incurable disease leading to patient death soon after diagnosis [5].

The review of the recent literature clearly shows importance of the apoptosis markers in cancer development. Apoptosis is an essential physiological process for the selective elimination of cells that are involved in a variety of biological events. The best characterized protein family in the regulation of apoptotic cell death is Bcl-2 family. It is an anti-apoptotic protein playing extremely important role in cell division and death [8].

MDM2 is another anti-apoptotic protein. Its importance has been implicated in many human cancers, including: sarcomas, certain hematologic malignancies, breast, colon and prostate cancers. MDM2 over-expression has been related to more aggressive disease and poorer survival [10].

The most recent studies on PCa cell lines are showing that induction of apoptosis is associated with an increase in activity of Bax pro-apoptotic protein [1,6]. These results are showing close cooperation between the processes of cell cycle arrest and apoptosis in PCa. This is supported by clinical studies showing high association between expression of Bax and: bin1, MDM2, p21, and p65 in post-prostatectomy PCa tissue specimens [3].

There are very limited number of clinical studies on the importance of apoptosis markers in Benign prostatic hyperplasia (BPH) and PCa. In the current study we evaluated the expression of Bcl-2, MDM2 and Bax in different cells of BPH, PCa and hormonally treated prostate cancer (CRPCa) tissues. Possible association of intensity of the expression with the disease clinical parameters has been assessed.

Materials and methods. Patient groups

The study population consisted of 77 consecutive patients treated at our institution. The patients were divided into three groups: Group I: 39 patients with BPH, Group II: 28 primary prostate cancer (PCa), and Group III: 10 hormonally treated PCa patients. Of the latter group five patients had castration resistant cancer with rising serum PSA and progressive disease.

The mean age of the patients from Group I was 66.7±8 years (range: 50-79 years). All of them underwent scheduled TURP due to the clinical diagnosis of BPH. The mean follow-up was 21 months (range: 1-23 months).

The mean patient age in Group II was 68±5 years (range: 55-74 years). Radical retropubic (80%) or perineal (20%) prostatectomy was performed in all patients. The mean preoperative serum PSA was 13.6 ng/ml (range: 0.4-46.0 ng/ml). The majority (73%) of the tumors were organ confined. Twenty seven percent of cancers were well-differentiated with the Gleason sum (GS) of 2-4; 23% were moderately differentiated with the GS 5-6; and 50% had the GS7 disease. The mean follow-up is 21 months (range: 1-23 months).

The mean age of the patients in Group III was 71±2 years (range: 68-74 years). All of them were diagnosed as locally advanced (T3-4) and/or metastatic disease and were treated with surgical castration. The mean duration of hormone therapy was 11.8±7 months (range: 5-22 months). All patients had a stable disease without clinical signs of hormone-refractory tumor. One patient died of other than cancer reasons. The mean PSA level at the time of investigation was 15 ng/ml (range: 1.4-32 ng/ml). The mean follow-up is 12 months (range: 5-22 months).

Tissue sampling and immunohistochemistry

The representative sections of all resected specimens were examined by the pathologist for the histopathological characteristics of the lesions to be further evaluated immunohistochemically. Only BPH specimens with acceptable morphological changes (mild stromal infiltration and/or inflammation etc.) were further immunohistochemically evaluated and included in Group I. The tumours (Group

II) were staged according to the UICC 2002 TNM classification and graded with the Gleason grading system. TURP was performed in all patients from Group III for the treatment of bladder outlet obstruction. The mean duration from the castration to TURP was 7.25 months.

The immunostaining of tissue specimens was performed as described earlier (8). Shortly, the tissue samples were deparaffinised in xylene and rehydrated in graded ethanol. Sections were pretreated by the microwave antigen retrieval procedure in 10mmol/L of boiling citrate buffer solution (pH 6.0). The tissue sections were then incubated with primary antibodies against Bcl-2, MDM2 and Bax (Zytomed SysteMS Inc.) diluted (no dilution, 1:200 and 1:100, respectively) in phosphate-buffered saline (PBS). The tissue sections were revealed using the Biotin-Streptavidin detection system (ZytoChem Plus (HRP) kit, Zytomed SysteMS Inc.). Samples were developed with liquid diaminobenzidine + substrate-chromogen system and counterstained with haematoxylin.

Slides were evaluated blindly by two of the authors (O.T. and Z.H.S.). Both nuclear and cytoplasmic stainings were considered positive and were counted. The whole tissue area of the same size was evaluated and scored. Total (TS), epithelial (ES), stromal (SS), vascular (VS) and ductal (DS) expression of the markers was evaluated separately, by calculating the respective scores. Total expression (TS) of the markers was evaluated semi-quantitatively according to the following scoring system: score 1, 0-25%; score 2, 26-50%; score 3, 51-75%; and score 4, $\geq 76\%$ of total cells positive. The percent of positive acini were counted for the epithelial score (ES). The stromal expression (SS) was assessed by the following scoring system: no expression – 0, mild – 1, moderate – 2 and strong expression – 3. The percentage of positive crosscut blood vessels and prostatic ducts were counted in vascular (VS) and ductal scores (DS), respectively. Cytoplasmic markers' expression was assessed as positive or negative.

Statistical analysis was performed using computer software (SPSS 12.0 for Windows, Lead Technologies Inc. 2003, Chicago, IL). Normality of data distribution was examined with Shapiro-Wilk test. Marker expression in the Groups was compared with Mann-Whitney and two sample T tests. Correlation of intensity of the markers' expression with the patient age and serum PSA level was analyzed with Pearson and Spearman correlation analyses. A possible association with the clinical parameters was analyzed with Kruskal-Wallis and ANOVA tests. In case of significant difference the means of the data were compared with Bonferroni test for homogeneity of means and nonparametric comparison of ranks.

Results and their discussion. Comparison of the intensity of markers' expression has shown that MDM2 expression was significantly higher in PCa and CRPCa as compared with BPH ($p=0.0152$) (Fig. 1). This difference has been detected in epithelial ($p=0.0349$) and vascular ($p=0.0319$) prostatic cells (Fig. 2).

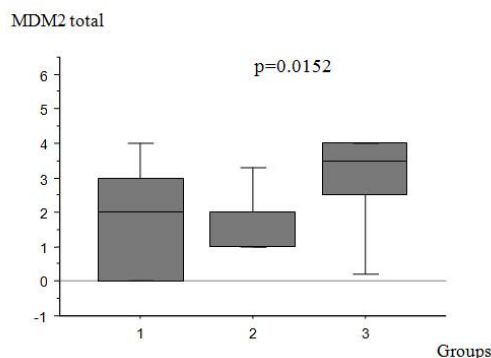
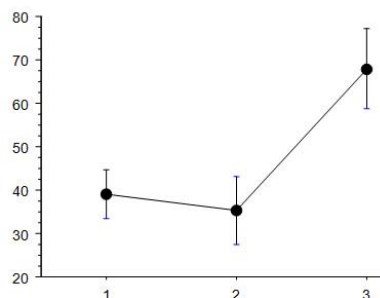


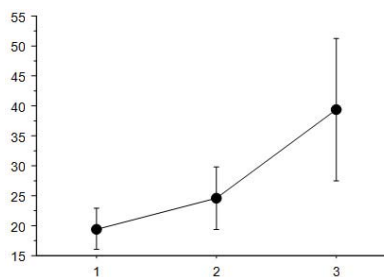
Fig. 1. Comparison of intensity of MDM2 expression between the groups

a)



	Mean Diff.	Crit. Diff.	P-Value
1, 2	3.532	21.538	.7437
1, 3	-28.908	26.781	.0349 S
2, 3	-32.440	31.029	.0408 S

b)



	Mean Diff.	Crit. Diff.	P-Value
1, 2	-5.122	14.512	.4824
1, 3	-19.824	18.045	.0319 S
2, 3	-14.702	20.907	.1644

Fig. 2. Intensity of MDM2 expression in a) epithelial and b) vascular prostatic cells

Like MDM2, Bcl-2 activity was significantly higher in PCa and CRPCa as compared with BPH ($p=0.0289$) (Fig. 3). This difference was visible in epithelial prostatic cells: epithelial Bcl-2 expression was significantly higher in CRPCa as compared with both, PCa and BPH (Fig. 4).

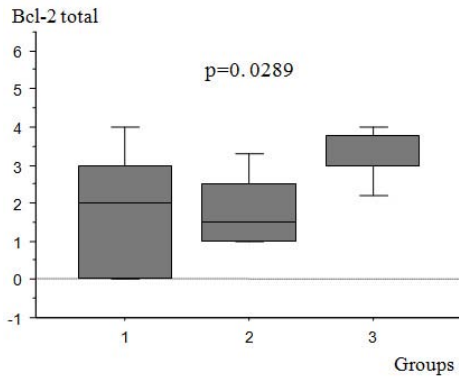


Fig. 3. Comparison of intensity of Bcl-2 expression between the groups

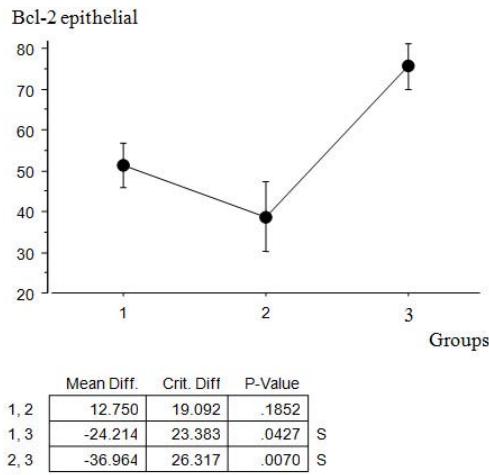


Fig. 4. Intensity of Bcl-2 expression in epithelial prostatic cells

Unlike the above two markers, intensity of pro-apoptotic protein Bax was significantly higher in BPH than in PCa and CRPCa ($p=0.0444$) (Fig. 5). This difference has been detected in cytoplasmic ($p=0.0023$) and ductal ($p=0.0002$) prostatic cells (Fig. 6).

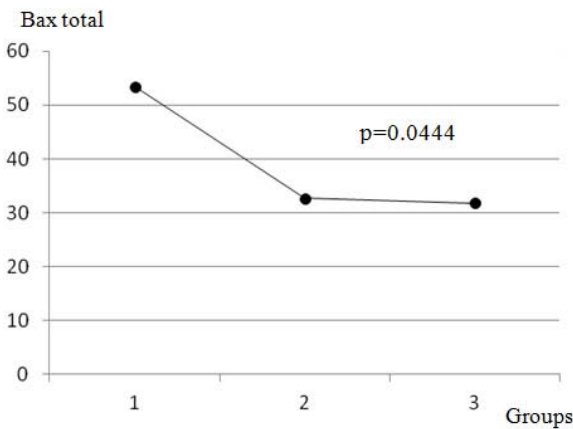
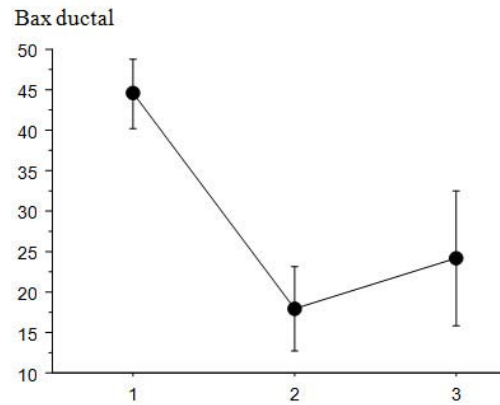


Fig. 5. Comparison of intensity of Bax expression between the groups



	Mean Diff.	Crit. Diff.	P-Value	
1, 2	26.583	13.477	.0002	S
1, 4	20.375	19.422	.0401	S
2, 4	-6.208	19.779	.5322	

Fig. 6. Intensity of Bax expression in ductal prostatic cells

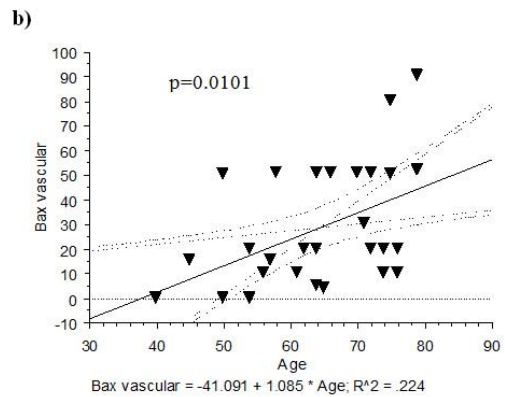
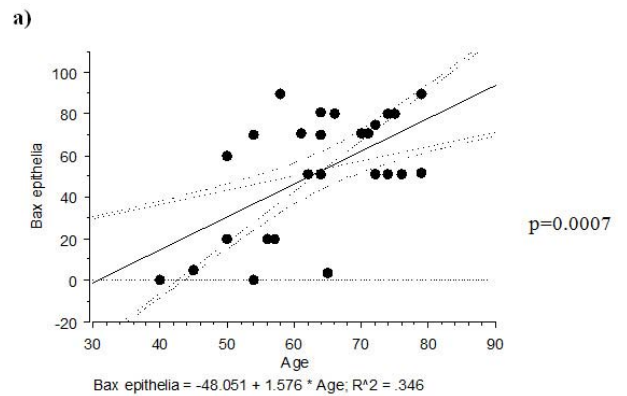


Fig. 7. Correlation of Bax activity in a) epithelial and b) vascular prostatic cells with patient age in BPH

Analyses of correlation of intensity of the markers' activity with clinical parameter have shown that Bax activity in epithelial and vascular cells of BPH was positively correlated with patient age ($R^2=0.346$ and 0.224 ; $p=0.0007$ and 0.0101 , respectively) (Fig. 7). Intensity of Bcl-2 was significantly increasing ($R^2=0.192$, $p=0.0460$), while activity of Bax was decreasing ($R^2=0.151$, $p=0.0192$) with increasing

prostate volume (Fig. 8). Significant correlation has been detected with the markers' activity and residual urine. In particular, MDM2 activity was increasing ($R^2=0.080$, $p=0.0247$) while epithelial activity of Bax was decreasing ($R^2=0.251$, $p=0.0165$) with increasing residual urine (Fig. 9). Serum PSA level was positively correlated with MDM2 ($R^2=0.189$, $p=0.0153$) and negatively correlated with Bax ($R^2=0.048$, $p=0.0064$) activity (Fig. 10).

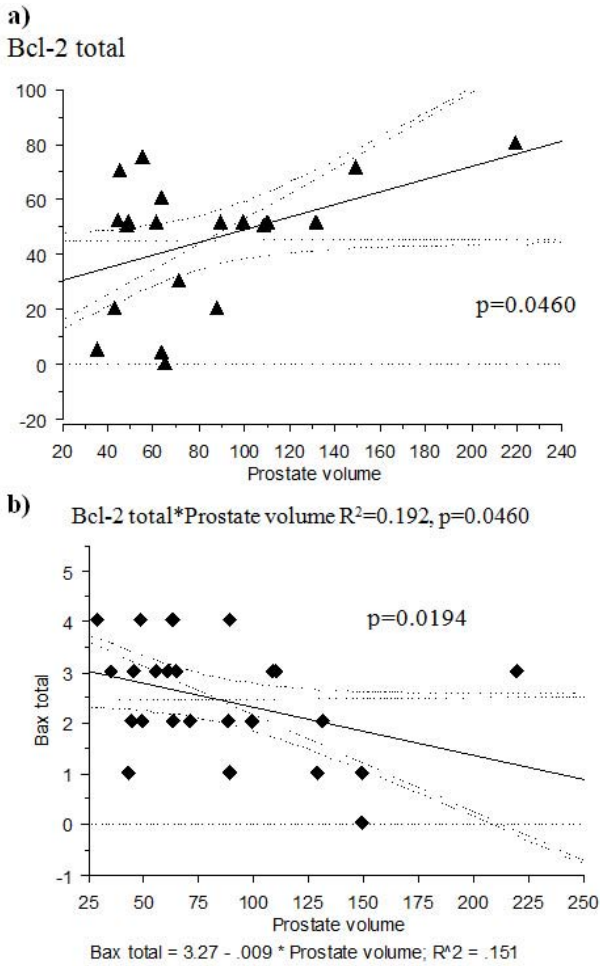


Fig. 8. Correlation of a) Bcl-2 and b) Bax activities with prostatic volume

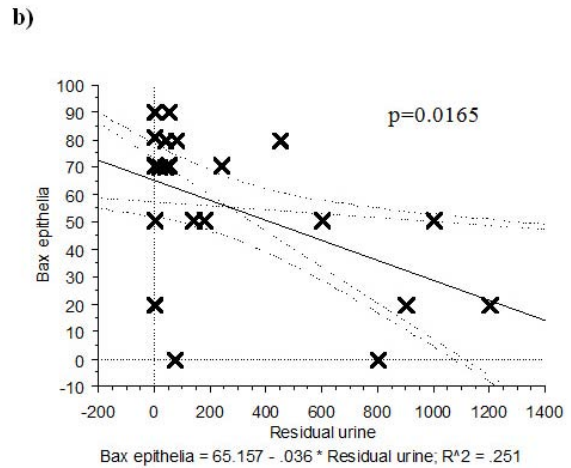
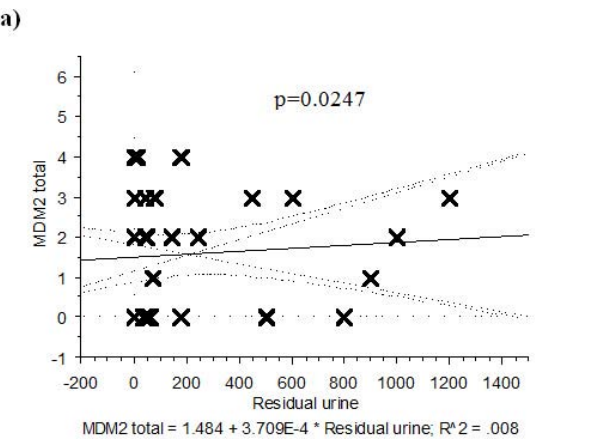


Fig. 9. Correlation of a) MDM2 and b) Bax activities with residual volume

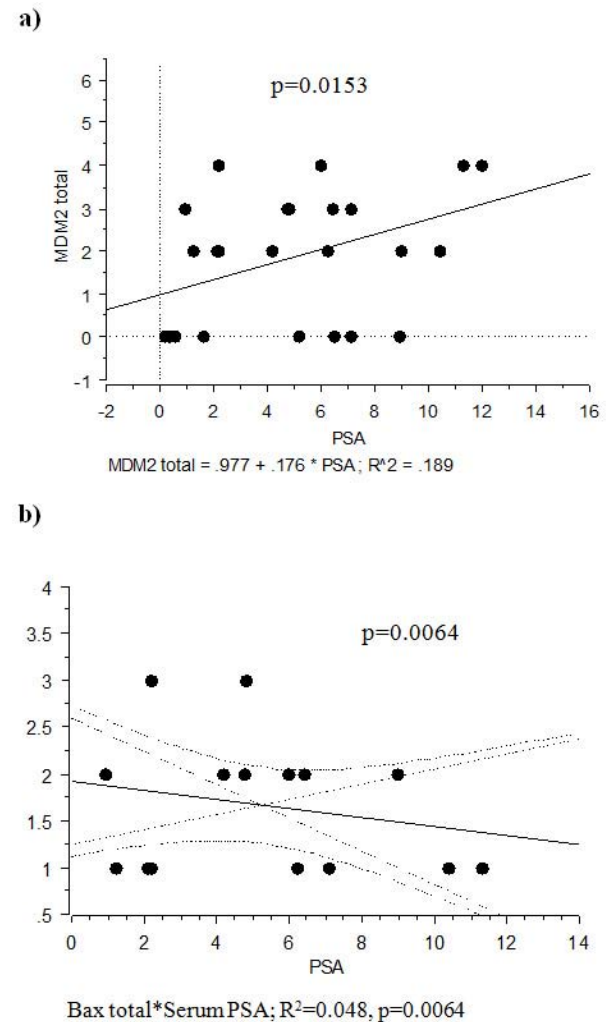


Fig. 10. Correlation of a) MDM2 and b) Bax activities with serum PSA

Finally, possible correlation has been analyzed between apoptosis and cell cycle markers in various BPH cells. p27^(Kip1) cell cycle inhibitor was positively correlated with Bax ($R^2=0.215$, $p=0.0224$) but negatively correlated with

Bcl-2 ($R^2=0.612$, $p=0.0004$) activities (Fig. 11). Proliferation marker Ki67 was positively correlated with MDM2 ($R^2=0.205$, $p=0.0066$) and Bcl-2 ($R^2=0.240$, $p=0.0140$) (Fig. 12). With increasing Ki67, Bax activity was significantly decreasing ($p=0.0061$) (Fig. 13). Cyclin D3 was positively correlated with with Bax ($p=0.0003$).

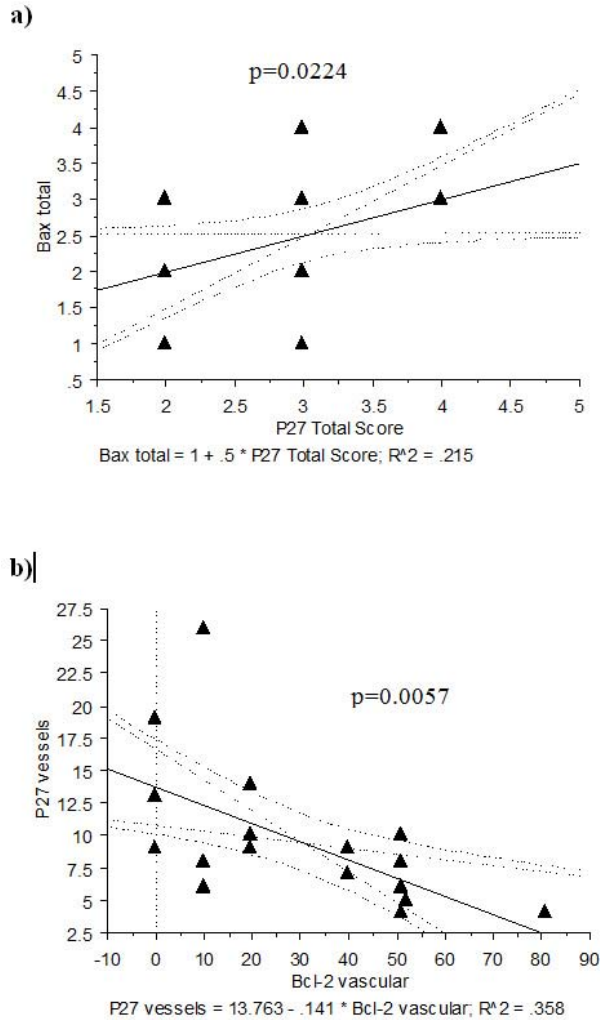


Fig. 11. Correlation between $p27^{(Kip1)}$, a) Bax and b) Bcl-2 in BPH tissues

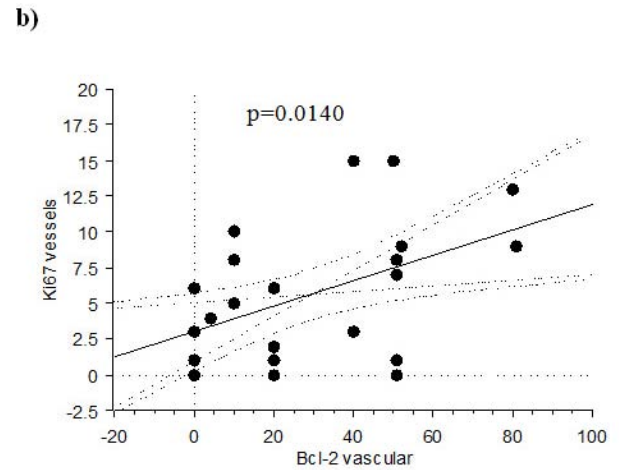
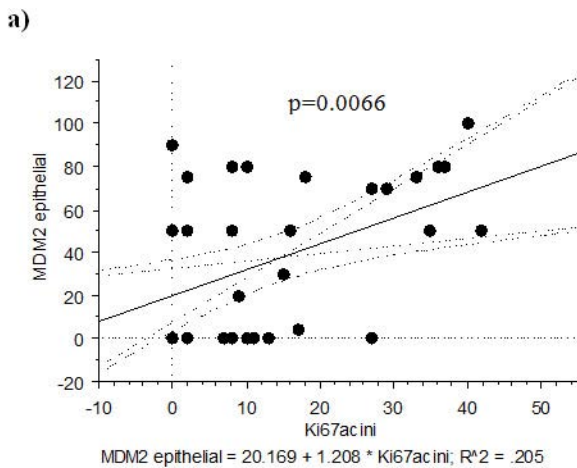


Fig. 12. Correlation between Ki67, a) MDM2 and b) Bcl-2 in BPH tissues

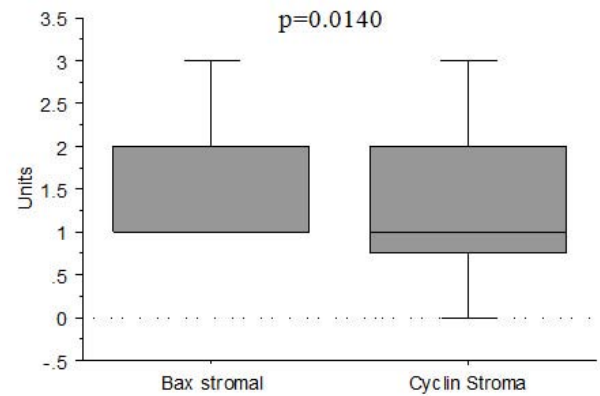


Fig. 13. Correlation between Cyclin D3 and Bax in BPH tissues

In the current study we have evaluated the expression of MDM2, Bcl-2 and Bax in tissue samples derived separately from BPH, primary PCa and CRPCa patients. This ensures maximal objectivity in the assessment of the results. In accordance with some other studies, it has been shown that activity of anti-apoptotic MDM2, Bcl-2 is significantly down-regulated in BPH as compared with PCa and CRPCa [2,9]. The difference was visible in epithelial and vascular prostatic cells. This can be explained by a high proliferative activity of these cells in comparison with epithelial and vascular endothelial cells. Conversely, intensity of pro-apoptotic protein Bax was significantly higher in PBH than in PCa and CRPCa. These effect should be further evaluated in clinical studies with higher number of patients including the hormonally treated PCa patients. We have detected the positive correlation between Bax activity and patient age indicating on the increasing of apoptosis with patient age.

The new finding of this study is association of apoptosis markers with prostate volume and serum PSA levels. Activity of Bcl-2 was up-regulated, while activity of Bax was down-regulated with increasing prostate volume. This indicates on rising proliferative activity and reduced

apoptotic processes in large prostates. In accordance with this finding, the serum PSA level was positively correlated with MDM2 and negatively correlated with Bax activity. Both of these new findings should be further evaluated in clinical studies with more patient numbers.

Another important aspect of the present study is evaluation of the CRPCa tissues. This is the first attempt to assess importance of the apoptosis in the PCa after hormonal treatment. There are very few reports on the potential value of the markers in CRPCa. Further evaluation of hormonally treated PCa patients will provide additional information on the prognosis of these patient, postoperative follow-up, necessity of second line therapy etc. The possible difference in the markers' expression profile between hormone-sensitive and hormone-resistant PCas will better characterize the mechanisms of secondary cancer growth, its early detection and treatment.

The relatively small number of patients in the CRPCa group is due to the limited number of the patients needing TURP after hormonal treatment. Distinct quantitative analysis of marker expression is impossible to perform with biopsy samples because of insufficient amount of tissue and sample biases.

Finally, association between apoptosis and cell cycle markers detected in this study indicates on the interrelationship between these two extremely important, genetically regulated processes. This is an original finding that needs further evaluation with more sensitive techniques.

The primary results of this study support the value of the assessed markers in BPH and indicate the direction which future research should take. The Kaplan-Meier survival and Cox regression analyses should be performed to see whether the studied markers are related to the cancer recurrence and patient survival. Further studies with longer follow-up are needed in this respect.

In conclusion, this study has shown that activity of MDM2 and Bcl-2 is down-regulated whereas Bax is up-regulated in BPH as compared with PCa and CRPCa. Intensity of the markers' expression is associated with clinical parameters like: patient age, prostate volume, residual urine and serum PSA. Anti-apoptotic markers MDM2 and Bcl-2 are negatively correlated with cell cycle inhibitor p27^(Kip1) and positively correlated with proliferation markers Ki67 and Cyclin D3. Pro-apoptotic Bax is negatively associated with Ki67 and Cyclin D3 and positively associated with p27^(Kip1). This is the first study showing complex interrelation between apoptosis and cell cycle regulating proteins in BPH tissue.

Acknowledgments. This study was supported by grant from Shota Rustaveli National Science Foundation # FR/409/8-338/12.

REFERENCES

1. Almubarak H, Jones A, Chaisuparat R, et al. Zoledronic acid directly suppresses cell proliferation and induces apoptosis in highly tumorigenic prostate and breast cancers. *J Carcinog.* 2011; 10: 2.
2. Araujo VC, Martins MT, Leite KRM, et al. Immunohistochemical MDM2 expression in minor salivary gland tumours and its relationship to p53 gene status. *Oral Oncology* 2000; 36: 67–9.
3. Chkhotua AB, Gabuzi E, Altimari A et al. Increased expression of p16^(INK4a) and p27^(Kip1) cyclin-dependent kinase inhibitor genes in ageing human kidney and chronic allograft nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2003; 41:1303-1313.
4. Mirtti T, Kallajoki M, Aaltonen M, Alanen K. Cyclin A and Ki-67 with DNA content in benign and malignant prostatic epithelial lesions. *Anal Quant Cytol Histol* 2001; 23:229-239.
5. Petrylak DP, Tangen CM, Hussain MH et al. Docetaxel and Estramustine Compared with Mitoxantrone and Prednisone for Advanced Refractory Prostate Cancer. *N Engl J Med* 2004; 351:1513-1520.
6. Pitchakarn P, Suzuki S, Ogawa K, Pompimon W et al. Induction of G1 arrest and apoptosis in androgen-dependent human prostate cancer by Kuguacin J, a triterpenoid from *Momordica charantia* leaf. *Cancer Lett.* 2011; 306: 142-50.
7. Poulos CK, Daggy JK, Cheng L. Preoperative prediction of Gleason grade in radical prostatectomy specimens: the influence of different Gleason grades from multiple positive biopsy sites. *Modern Pathology* 2005; 18:228-234.
8. Tsujimoto Y. Role of Bcl-2 family proteins in apoptosis: apoptosomes or mitochondria. *Genes Cells.* 1998; 3: 697-707.
9. Wu CT, Chen WC, Liao SK, et al. The radiation response of hormone-resistant prostate cancer induced by long-term hormone therapy. *Endocr Relat Cancer.* 2007; 14: 633-43.
10. Zhang R, Wang H, Agrawal S. Novel antisense anti-MDM2 mixed-backbone oligonucleotides: proof of principle, in vitro and in vivo activities, and mechanisms. *Curr Cancer Drug Targets.* 2005; 5: 43-9.

SUMMARY

IMPORTANCE OF APOPTOSIS MARKERS (MDM2, BCL-2 AND Bax) IN BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA AND PROSTATE CANCER

²Saker Z., ²Tsintsadze O., ³Jiqia I., ¹Managadze L., ¹Chkhotua A.

¹A. Tsulukidze National Centre of Urology, ²Department of Urology, ²Department of Pathology; ³Scientific and Practical Center of Clinical Pathology, Tbilisi, Georgia

Aim of the study - MDM2, Bcl-2 and Bax are well recognized markers of apoptosis. The goal of the current study

was evaluation of the activity of these markers in different cells of BPH, PCa and hormonally treated prostate cancer (CRPCa) tissues.

Activity of the markers has been evaluated in: 39 BPH, 28 prostate cancer (PCa) and 10 castration resistant PCa (CRPCa) tissues. Possible association of intensity of the expression with the disease clinical parameters has been assessed.

Activity of MDM2 was higher in PCa and CRPCa as compared with BPH. This difference has been detected in epithelial and vascular prostatic cells. Epithelial activity of Bcl-2 was significantly lower in BPH as compared with PCa and CRPCa. Conversely, intensity of pro-apoptotic protein Bax was significantly higher in BPH than in PCa and CRPCa. The Bax activity in acinar and ductal cells of BPH was positively correlated with age. Intensity of Bcl-2 was significantly increasing, while activity of Bax was decreasing with increasing prostate volume. Significant correlation has been detected with the markers' activity and residual urine. In particular, MDM2 activity was increasing while epithelial activity of Bax was decreasing with increasing residual urine. Serum PSA level was positively correlated with MDM2 and negatively correlated with Bax activity. p27^(Kip1) cell cycle inhibitor was positively correlated with Bax but negatively correlated with Bcl-2 activities. Proliferation marker Ki67 was positively correlated with MDM2 and Bcl-2. With increasing Ki67, Bax activity was significantly decreasing. Cyclin D3 was positively correlated with Bax.

This pilot study has shown importance of apoptosis markers in BPH and PCa. It is the first study showing complex interrelation between apoptosis and cell cycle regulating proteins in BPH and PCa.

Keywords: BPH, prostate cancer, apoptosis.

РЕЗЮМЕ

ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА (MDM2, BCL-2 И Bax) ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ И РАКЕ ПРОСТАТЫ

²Сакер З.Х., ²Цинцадзе О.В., ³Джикия И.Д.,
¹Манагадзе Л.Г., ¹Чхотуа А.Б.

¹Национальный центр урологии им. А. Цулукидзе, департамент урологии, ²департамент патологии; Научно-практический центр клинической урологии, Тбилиси, Грузия

MDM2, BCL-2 и Bax являются протеинами, участвующими в процессе апоптоза. Целью данного исследования явилось изучение роли данных маркеров в развитии доброкачественной гиперплазии (ДГП)

и рака простаты (РП). Изучена активность MDM2, BCL-2 И Bax в различных тканевых структурах: 39 ДГП, 29 - РП и 10 - кастрация-резистентном РП (КРРП). Проанализирована связь между активностью маркеров и различными клиническими параметрами заболеваний. Активность MDM2 и BCL-2 была увеличена, а активность Bax понижена при РП и КРРП по сравнению с ДГП. Активность Bax увеличивалась с увеличением возраста пациентов. Уровень активности маркеров статистически достоверно коррелировал со следующими параметрами заболевания: размер простаты, уровень ПСА в крови, количество остаточной мочи. Выявлена корреляция между активностью маркеров апоптоза с маркерами клеточного рака (p27^(Kip1), Ki67 и циклин D3). Это оригинальное исследование выявило взаимосвязь между маркерами апоптоза и клеточного цикла в доброкачественной гиперплазии и раке простаты.

რეზიუმე

აპოპტოზის მარკერების (MDM2, Bcl-2 და Bax) როლი პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიისა და კიბოს დროს

²ზ. საკერი, ²ო. ცინცაძე, ³ი. ჯიქია, ¹ლ. მანაგაძე,
¹ა. ჩხოტუა

¹ა. წულუკიძის სახ. უროლოგიის ეროვნული ცენტრი, უროლოგიის დეპარტამენტი, ²პათოლოგიის დეპარტამენტი; ³კლინიკური უროლოგიის სამეცნიერო-პრაქტიკული ცენტრი, თბილისი, საქართველო

MDM2, Bcl-2 და Bax აპოპტოზის მარკერული ბედი მარკერებია. აღნიშნული კვლევის მიზანია ამ მარკერების როლის შესწავლა პროსტატის კეთილთვისებიანი ჰიპერპლაზიის (ჰკპ), პროსტატის კიბოსა (კკ) და ჰორმონალურად ნამკურნალები პკ-ს დროს. შესწავლილია MDM2, Bcl-2 და Bax-ის აქტივობა: 39 პკპ-ის, 29 პკ-სა და 10 კასტრაცია რეზისტენტული პკ-ს (კრპკ) სხვადასხვა ქსოვილოვან სტრუქტურაში. შეფასდა მარკერების აქტივობის კორელაცია მთელ რიგ კლინიკურ პარამეტრებთან. MDM2-ისა და Bcl-2-ს ექსპრესია გაძლიერებული იყო ხოლო Bax-ის აქტივობა დაქვეითებული პკ-სა და კრპკ-ს დროს პკპ-თან შედარებით. Bcl-2-ს აქტივობა მატულობდა, ხოლო Bax-ის აქტივობა კლებულობდა პროსტატის მოცულობის ზრდასთან ერთად. მარკერების აქტივობა კავშირში იყო შემდეგ კლინიკურ პარამეტრებთან: ნარჩენი შარდის მოცულობა, სისხლში პსა-ის დონე და პროსტატის ზომა. შეფასდა აპოპტოზის მარკერების კავშირი უჯრედის ციკლის მარკერული ბედი პროტეინებთან. p27^(Kip1)-ის ექსპრესიის ინტენსივობა პოზიტიურ კორელაციაში იყო Bax-ის და ნეგატიურ კორელაციაში Bcl-2-ს აქტივობასთან. პროლიფერაციის მარკერი

Ki67 პოზიტიურ კორელაციაში იყო MDM2-სა და Bcl-2-სთან. Ki67-ის აქტივობის ზრდასთან ერთად Bax-ის აქტივობა კლებულობდა. Cyclin D3 პოზიტიურ კორელაციაში იყო Bax-თან. ეს არის

პირველი კვლევა, რომელშიც გაანალიზებულია აპოპტოზისა და უჯრედის ციკლის მარეგულირებელი პროტეინების ურთიერთკავშირი პკ3-სა და პკ-ს დროს.

THE USE OF BOWEL FOR BILATERAL URETER SUBSTITUTION: A CASE REPORT AND REVIEW OF LITERATURE

Zhvania G., Mshvildadze Sh., Ujmajuridze A., Chanturaia Z., Managadze L.

Al. Tsulukidze National Center of Urology, Tbilisi, Georgia

There are several techniques to treat short length ureteric defects or strictures. These damages may occur after iatrogenic ureteral injuries, congenital pelvi-ureteric junction obstruction, chronic inflammatory diseases, retroperitoneal fibrosis and ureteral carcinoma. In these cases are given the following operations: ureterocystoneoanastomosis, psoas hitch, Boari flap, transuretero-ureterostomy, Andersen-Haines and some cases - renal autotransplantation.

In some occasions the ureteral stricture is multifocal and defect is too long. In these cases it is useful to use extra urinary tissue such as artificial ureteral substitutes [2] which showed disappointing results. The other option is to use a bowel graft [18]. The most commonly used technique is ileal ureter replacement which was first described by Schoemaker in 1906 [19] and gained wide acceptance later on. In our case we made bilateral ureter substitution according one of the modifications with was applied by Libertino.

Material and methods. November 2013 year a 52-year-old female patient underwent bilateral ureteral replacement by ileal segment of bowel. There were multiple strictures of

ureter and upper urinary tract obstruction on both sides. Patient underwent preoperative examination with included complete urine analysis, serum creatinine, sodium, potassium and chloride and PH level estimation. Radiological investigations to visualize the upper urinary tract included renal ultrasonography, nephrostomography and retrograde ureterorenography. Intravenous urography was done after operation. Patient underwent preoperative colonic preparation for 48 hours with Macrogolum and Metronidazole, also antibacterial treatment according urine culture.

Anamnestic data. Patient presented with 2 year history of recurrent urinary tract infection associated with bilateral loin colicky pains, high temperature and fever. Several times she underwent percutaneous nephrostomy or retrograde double J stent on both sides (Fig. 1). By radiological examination there was diagnosed ureterohydronephrosis (Fig. 2,4) on both sides causing with multiple ureter stricture (Fig. 3,5,6). While examination there were excluded such diseases: stone disease, urinary tract tuberculosis or carcinoma. Patient had no any surgical treatment before.



Fig. 1. Double J stent and percutaneous nephrostomy on both sides



Fig. 2. Right ureterohydronephrosis



Fig. 3. Right ureter stricture



Fig. 4. Left ureterohydronephrosis



Fig. 5. Left ureter stricture



Fig. 6. Left ureter stricture



Fig. 7. UIV After surgery



Fig. 8. UIV After surgery



Fig. 9. UIV After surgery



Fig. 10. UIV cystography after surgery

Surgical technique. The patient is placed in the supine position. More preferable incision is on the linea Alba from the xiphoid process to the symphysis pubis. The ileum must be controlled to see any limitations imposed by its mesentery. The cecum and ascending colon are mobilized medially on the right by the incision in the lateral peritoneal gutter through the avascular line of Toldt. The descending and sigmoid colon mobilized by same technique. A 25-th to 35-cm length of ileum is selected (Fig. 11). Redintegrate of the ileum occurred with two layer bowel anastomosis. Isolated ileal segment stay posteriorly (Fig. 12). This segment is placed

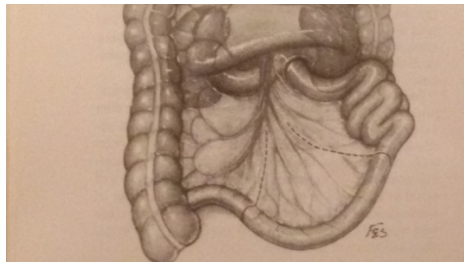


Fig. 11. From Libertino JA, Dowd JB: Ileal ureteral replacement. In McDougal WS, editor: Rob & Smiths's operative surgery: urology, ed 4, London, 1986, Butterworths)

in retroperitoneal position with isoperistaltic direction (Fig. 13). The proximal anastomosis sutured from the left renal pelvis to the right renal pelvis and descends to the bladder in an ileal segment Y formation (Fig. 14). Bladder opened in the midline. Anastomosis is carried on the posterior wall of the bladder. There is an important step to made adequate hole of the bladder posteriorly. (Fig. 15). Anastomosis carried out with two layers (Fig. 16). The both kidney and bladder must be drainage. The anterior wall of bladder also closed in two layers. Any mesenteric holes are closed and right colon should be reperitonealized (Fig. 17).



Fig. 12. From Libertino JA, Dowd JB: Ileal ureteral replacement. In McDougal WS, editor: Rob & Smiths's operative surgery: urology, ed 4, London, 1986, Butterworths)

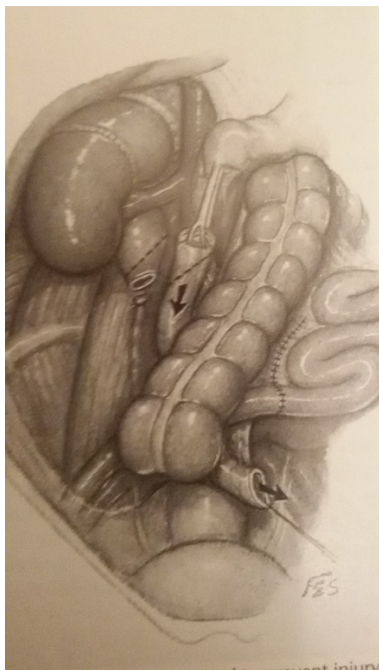


Fig. 13. From Libertino JA, Dowd JB: Ileal ureteral replacement. In McDougal WS, editor: Rob & Smiths's operative surgery: urology, ed 4, London, 1986, Butterworths)

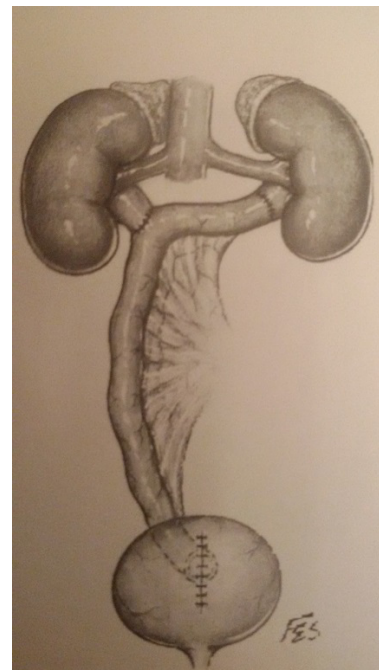


Fig. 14. From Libertino JA, Dowd JB: Ileal ureteral replacement. In McDougal WS, editor: Rob & Smiths's operative surgery: urology, ed 4, London, 1986, Butterworths)

Results and their discussion. There were no intraoperative complications in our case. Operation duration was 3hours 40min. Blood loss was less than 200 cc.

Postoperative follow-up showed no significant complications. Early postoperative complications were minor in the form of mucus production in plenty without wound infection. It was necessary bladder tube irrigation and oral treatment with acetylcysteine. An uncomplicated UTI was

managed by antibiotic therapy according urine microscopy. Despite reported by various studies in varying percentages [1,22] no hyperchloremic metabolic abnormalities occurred in our case.

Follow-up was carried out for up to 18 months. At 3 months serum creatinine was better – 1.1mg/dl. UIV showed improvement of renal function without urinary obstruction (Fig. 7,8,9,10). After 18 months examination this data of

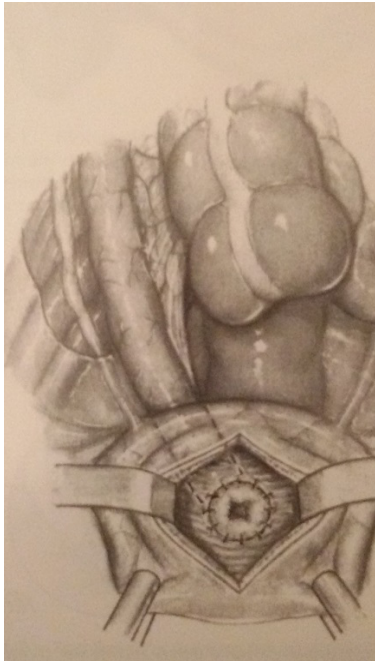


Fig. 15. From Libertino JA, Dowd JB: Ileal ureteral replacement. In McDougal WS, editor: *Rob & Smiths's operative surgery: urology*, ed 4, London, 1986, Butterworths



Fig. 16. From Libertino JA, Dowd JB: Ileal ureteral replacement. In McDougal WS, editor: *Rob & Smiths's operative surgery: urology*, ed 4, London, 1986, Butterworths

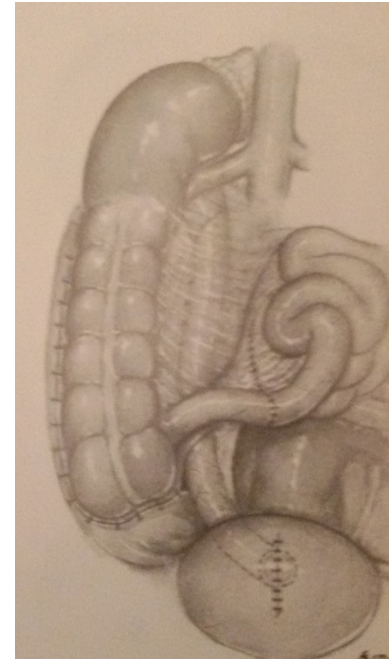


Fig. 17. From Libertino JA, Dowd JB: Ileal ureteral replacement. In McDougal WS, editor: *Rob & Smiths's operative surgery: urology*, ed 4, London, 1986, Butterworths

Despite improving surgery technique iatrogenic ureteral trauma showed an increased incidence as one of the causes of ureteric stricture [1,22]. Gynecologic, general surgical, and urologic procedures in the pelvis, put the ureter at risk for injury. Surgical management of the ureter is depending by the location of the ureteral injury. In the case of distal ureteral injuries ureteroneocystostomy, with or without a vesico-psoas hitch, is the most commonly used technique. If the stricture is in the middle or proximal ureter then an ureteroureterostomy, or a Boari flap are commonly applied. In different case of ureter injury rarely carried out renal auto transplantation.

Bilateral ureteric obstruction is a common complication of urinary tract chronic inflammatory reaction resulting in to ureteral fibrosis [20]. Idiopathic and tuberculous retroperitoneal fibrosis may give similar ureteral stricture and obstruction [3,16]. A long severe ureteral strictures lead to ureterohydronephrosis. Fever, renal colic, dysuria, proteinuria and hematuria are the most common clinical presentation [20]. The last manifestation as the case may be renal failure [20]. Pre-operative anatomical and functional assessments are very important. In our clinic is able to make these investigations: renal and urinary tract ultrasonography, Intravenous and retrograde ureteropyelography, ureterocystography and spiral computerized tomography. In some cases nuclear renal scan used to check kidney function and degree of obstruction. Frequently preliminary percutaneous bilateral tube nephrostomy drainages or retrograde double J stent were carried out for the purpose of pressure renal function of the patient [4].

The reconstruction of complex ureteral injuries is one of the careful planning treatments. Replacement of the ureter with ileum or other intestinal segments is performed after more conservative methods have failed or been ruled out. A long segment strictured ureter substitution with ileal segment of bowel is an effective method with a good long term results.

Intestine substitution is the best option for this patient with severe long segment bilateral ureteral strictures. Both Mitrofanoff and Yang-Monti principles were basically used as urinary diversion for functional and continent stoma both in adults and children [11]. We used Libertino techniques in our case. Long segment of ileum can also be used from left kidney to the right kidney and then to the bladder.

The Politano-Leadbetter antireflux technique is applied for the bilateral ileal anastomoses to the bladder. However, the inevitability of this mechanism in adult is probably small because the risk of obstruction is likely to be greater than the risk of reflux.

Some groups have advocated adding an intussuscepted nipple to prevent reflux [21]. Others have recommended creating the antireflux system at the proximal ureteroileal segment anastomosis [13]. However, some found problems in nonrefluxing anastomoses. Shokeir et al found that using a distal nipple valve to prevent reflux led to significant problems, including detussusception of the nipple mechanism and stone formation at the staple line of the intussuscepted

segment [21]. The necessity of an antireflux procedure is still controversial. Kato et al. [15] assumed that antireflux mechanism may increase the resistance of urine flow with subsequent dilatation of the ileal segment in long-term follow-up. Because of such issues, others have deemed an antireflux procedure unnecessary [7].

The ileum and colon are used most often for urinary reconstruction. The preferences of the ileal segment are its mobility, small diameter, and constant blood supply [15]. In our case patient underwent bilateral ureteral replacement with long ileal segment of bowel. Ileal ureter replacement became now an established procedure for ureteric reconstruction especially after the urologists gained more experience in bowel surgery [7].

The issue of urinary tract infections after intestine substitution of ureter is well documented. Olsson noted that urinary tract infection can be expected in about 75% of patients who have had bowel interposed into the urinary tract [17]. In our case urinary tract infection was non-etiological mean. If the issue of urinary tract infection becomes chronic, these patients should be treated with chronic administration of prophylactic antibiotics [17].

Ali-El-Dein and Ghoneim described an ileal ureteral model based on the Yang-Monti principle, which uses a shorter piece of bowel that is incised along its antimesenteric border and tubularized around a 16Fr tube [5]. The rationale behind using a shorter piece of bowel was to decrease the potential absorptive area and potentially decrease the incidence of metabolic derangements. Also, using fewer bowels produces less mucus. Gill et al reported the creation of an ileal ureter with a laparoscopic approach with good overall results [9].

Ureter substitution ileal bowel segment is a safe technique without significant complication and by literature review it permits a durable preservation of renal function. It can be done unilateral or bilateral side without any addition complication. It is choice of method in correctly selected patients.

REFERENCES

1. Alam K, Maheshwari V, Jain A, Siddiqui FA, Hag ME, Parasad S, et al. Schistosomiasis: A case series, with review of literatures. *Internet J Infect Dis* 2009;7:1.
2. Ali-El-Dein B., Ghoneim M.A. Bridging long ureteral defects using the Yang-Monti principle. *J Urol.* 2003;169: 1074.
3. Armatys SA, Mellon MJ, Beck SD, Koch MO, Foster RS, Bihle R. Use of ileum as ureteral replacement in urological reconstruction. *J Urol.* 2009;181(1):177–81.
4. Badmos KB, Popoola AA, Buhari MO, Abdulkadir AY. Ureteric schistosomiasis with obstructive uropathy. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009;19:456-8.
5. Bakari AA, Gadam IA, Aliyu S, Suleiman I, Ahidjo AA,

Pindiga UH. Use of mitrofanoff and Yang-Monti techniques as ureteric substitution for severe schistosomal bilateral ureteric stricture: A case report and review of the literature. *Niger J Surg.* 2012; 18(1): 30-33.

6. Baltaci S, Ozer G, Ozer E, Soygür T, Beşalti O, Anafarta K: Failure of ureteral replacement with Gore-Tex tube grafts. *Urology* 1998; 51: 400-3.

7. Benjamin I. Chung, Karim J. Hamawy, Leonard N. Zinman, John A. Libertino The Use of Bowel for Ureteral Replacement for Complex Ureteral Reconstruction: Long-Term Results. *The Journal of Urology* 2006; 175;(1): 183-184.

8. Boxer RJ, Fritzsche P, Skinner DG, Kaufman JJ, Belt E, Smith RB, et al. Replacement of the ureter by small intestine: clinical application and results of the ileal ureter in 89 patients. *J Urol.* 1979;121:728–31.

9. Burks FN, Santucci RA. Management of iatrogenic ureteral injury. *Ther Adv Urol.* Jun 2014; 6(3): 115–124.

10. Chung BI, Hamawy KJ, Zinman LN, Libertino JA: The use of bowel for ureteral replacement for complex ureteral reconstruction: long-term results. *J Urol.* 2006; 175: 179-83; 183-4.

11. Esmat M, Abdelaal A, Mostafa D. Application of Yang-Monti principle in ileal ureter. *Int Braz J Urol.* 2012; 38 (6): 779-787.

12. Gill IS, Savage SJ, Senagore AJ, Sung GT. Laparoscopic ileal ureter. *J Urol.* 2000; 163: 1199.

13. Hsu THS, Strem SB, Nakada SY. Management of upper urinary tract obstruction. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. *Campbell-Walsh Urology.* 9th ed. Philadelphia: Saunders; 2007: 1227–1273.

14. John J, Smith III, John A. Libertino Reconstructive Urologic Surgery. *Ileal Ureter;* 1998; 23: 227.

15. Kato H, Abol-Enein H, Igawa Y, Nishizawa O, Ghoneim MA. A case of ileal ureter with proximal antireflux system. *Int J Urol.* 1999;6:320–323.

16. Monti PR, de Carvalho JR, Arap S. The Monti procedure: Applications and complications. *Urology* 2000;55:616-21.

17. Muttarak M, ChiangMai WN, Lojanapiwat B. Tuberculosis of the genitourinary tract: Imaging features with pathological correlation. *Singapore Med J* 2005;46:568-74; 575.

18. Olsson CA. Ileal ureter and renal autotransplantation. *Urol Clin North Am* 1983; 10: 685.

19. Shoemaker J. Discussie op voordracht van J.M. van Damn over interaabdminale plastiken. *Ned Tijdschr Geneesk.* 1911; 836.

20. Shokeir A.A., Ghoneim M.A. Further experience with the modified ileal ureter. *J Urol.* 1995; 154: 45.

21. Verduyck FJ, Heesakkers JP, Debruyne FM. Long-term results of ileum interposition for ureteral obstruction. *Eur Urol.* 2002;42(2):181–7.

22. Yeboah ED. The use of small intestinal segments to replaced diseased bilherzial ureters-a prospective study. *West Afr. J Med* 1993;12:162-5.

SUMMARY

THE USE OF BOWEL FOR BILATERAL URETER SUBSTITUTION: A CASE REPORT AND REVIEW OF LITERATURE

Zhvania G., Mshvildadze Sh., Ujmajuridze A., Chanturaia Z., Managadze L.

Al. Tsulukidze National Center of Urology, Tbilisi, Georgia

Intestinal ureteral replacement remains a useful procedure for complex ureteral reconstruction. Bilateral ureteral substitution is more complicated procedure. There are some different methods of ureteroplasty. In our case we used Libertino modification. In this case we have examined safety and efficacy of this procedure, surgical outcome and impact on renal function. Our results were compared to literature findings.

November 2013 year 52 years female patient underwent bilateral ureter replacement using the ileal segment of bowel. Exclusion criteria were elevated serum creatinine above to - 1.8 mg/dl, inflammatory bowel syndrome. Preoperatively we prepared patient with antibiotic therapy. Post-surgery was examined level of serum creatinine, dilatation of upper urinary tract, hematocrits, biochemical analysis, urinary tract infection, postoperative complications, and clinical outcomes. Follow-up protocol was carried out for up to 18 month.

There were no intra-operative or postoperative mortality or significant complications in our case. There was no significant blood loss during operation. Blood transfusion was – 230ml. There was minor by-effect in the form of mucus production and there was needful oral treatment with bladder irrigation. During follow up, no excess metabolic abnormalities were encountered. Renal function was normal without any evidence of urinary obstruction. Urinary tract infection was only non-etiological mean.

According to our case and revive of literature ureteric substitution with ileal segment is a safe technique with a positive outcome. It uses of any kind ureteric injury: iatrogenic or idiopathic; unilateral or bilateral. It is not associated with excess mucus metabolic abnormalities and preserved renal function without urinary tract infection or obstruction.

Keywords: ureter stricture, ileum, ureteral substitution.

РЕЗЮМЕ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КИШЕЧНИКА ДЛЯ ДВУСТОРОННЕЙ ЗАМЕНЫ МОЧЕТОЧНИКА: РАЗБОР СЛУЧАЯ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Жвания Г.Л., Мшвилдадзе Ш.Т., Уджмаджуридзе А.Н., Чантураия З.М., Манагадзе Л.Г.

Национальный центр урологии им. А. Цулукидзе, Тбилиси, Грузия

В реконструктивной хирургии замещение мочеточника кишкой - часто применяемый метод. Двусторонняя субституция мочеточников является более сложным оперативным вмешательством. Замещение обоих мочеточников можно выполнить различными методами. В нашем случае мы использовали модификацию по Либертино. Были оценены безопасность и эффективность двустороннего замещения мочеточника сегментом кишки, хирургический исход и влияние на функцию почек. Сделаны сравнения с литературными данными.

В ноябре 2013 года пациенту в возрасте 52 лет проведено двухстороннее замещение мочеточника подвздошной кишкой. Исключающим фактором был высокий уровень креатинина в сыворотке крови >1,8 мг/дл, а также желудочно-кишечные заболевания.

Проводилась предоперационная подготовка антибиотиками. Постоперационно оценивались уровень

креатинина в сыворотке крови, степень дилатации верхнего мочевого тракта, гематокрит, биохимические показатели, инфекция мочевого тракта, постоперационные осложнения и клинический исход. Наблюдение продолжалось до 18 месяцев.

Значительные интра- или постоперационные осложнения не наблюдались; потеря крови, гемотрансфузия составила 230 мл. Имели место побочные явления в виде продукции слизи, что поставило перед необходимостью проведения ирригации мочевого пузыря. В процессе наблюдения метаболические изменения и обструкция лоханочно-чашечной системы не выявлены, функция почек оставалась нормальной, инфекция мочевых путей имела неэтиологический характер.

Согласно литературным данным, замещение мочеточника подвздошной кишкой - безопасный и позитивный с точки зрения исхода метод. Он применяется при раз-

личных поражениях мочеточников - ятрогенных или идиопатических, односторонних или двусторонних поражениях, не ассоциируется с избыточной секрецией слизи и длительно защищает без обструкции функцию почки.

რეზიუმე

შარდსაწვეთის ორმხრივი ჩანაცვლება ნაწლავის გამოყენებით: შემთხვევის განხილვა და ლიტერატურის მიმოხილვა

გ. უვანია, შ. მშვილდაძე, ა. უჯმაჯურიძე,
ხ. ჭანტურაია, ლ. მანაგაძე

წულუკიძის სახ. უროლოგიის ეროვნული ცენტრი, თბილისი, საქართველო

შარდსაწვეთის რეკონსტრუქციულ ქირურგიაში ნაწლავით ჩანაცვლება ხშირად გამოყენებადი პროცედურაა. შარდსაწვეთის ორმხრივი ჩანაცვლება წარმოადგენს შედარებით რთულ ქირურგიულ ჩარევას. მისი შესრულება შესაძლებელია სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით. ჩვენ შემთხვევაში ოპერაცია ჩატარდა ლიბერტინოს მოდიფიკაციით. შეფასებულ იქნა შარდსაწვეთის ნაწლავით ორმხრივი ჩანაცვლების მეთოდის უსაფრთხოება და ეფექტურობა, ქირურგიული გამოსავალი და თირკმლის ფუნქციაზე ზეგავლენა. შედეგები შედარებულ იქნა ლიტერატურულ მონაცემებთან.

2013 წ. ნოემბერში 52 წლის პაციენტს ჩაუტარდა

შარდსაწვეთის ორმხრივი ჩანაცვლება თემოს ნაწლავით. გამომრიცხავი ფაქტორი იყო კრეატინინის მაღალი დონე სისხლის შრატში > 1.8 მგ/დლ და კუჭნაწლავის დაავადებები. პრეოპერაციულად პაციენტს შაუტარდა ანტიბიოტიკური პროფილაქტიკა. პოსტოპერაციულად მოწმდებოდა კრეატინინის დონე სისხლის შრატში, ზედა საშარდე ტრაქტის დილატაციის ხარისხი, ჰემატოკრიტი, ბიოქიმიური მაჩვენებლები, საშარდე ტრაქტის ინფექცია, პოსტოპერაციული გართულებები და კლინიკური გამოსავალი. მეთვალყურეობა გრძელდებოდა 18 თვემდე.

ინტრა- ან პოსტოპერაციული მნიშვნელოვანი გართულებები და სისხლკარგვა არ აღინიშნა. ჰემოტრანსფუზია შეადგენდა 230 მლ. გამოვლინდა გვერდითი ეფექტი ლორწოს პროდუქციის სახით, რის გამო საჭირო გახდა შარდის ბუშტის ირიგაცია. მეთვალყურეობის პერიოდში მეტაბოლური ცვლილებები არ გამოვლინდა. თირკმლის ფუნქცია იყო ნორმალური, ობსტრუქცია არ იყო გამოხატული. საშარდე ტრაქტის ინფექციას ჰქონდა მხოლოდ არაეტიოლოგიური ხასიათი.

კვლევის შედეგის და ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, შარდსაწვეთის თემოს ნაწლავით ჩანაცვლება არის უსაფრთხო და პოზიტიური გამოსავლის მქონე პროცედურა, გამოიყენება შარდსაწვეთის სხვადასხვა დაზიანებების დროს: იატროგენული თუ იდიოპათიური, ცალმხრივი თუ ორმხრივი. არ არის ასოცირებული ლორწოს ჭარბ სეკრეციასთან და ხანგრძლივად იცავს ობსტრუქციის გარეშე თირკმლის ფუნქციას.

INFLUENCE OF TYPE OF ANESTHESIA ON HEMODYNAMIC PARAMETERS AND OUTCOME OF DIALYSIS ARTERIOVENOUS FISTULA OPERATIONS

¹Shoshiashvili V., ²Tataradze A., ²Beglarishvili L., ²Managadze L., ²Chkhotua A.

¹Martin D. Abeloff Laboratory Cancer Research Center, Tbilisi;

²Al. Tsulukidze National Center of Urology, Tbilisi, Georgia

Chronic kidney disease (CKD) is one of the most serious medical and social problems [15]. More than 2000 patients are on renal replacement therapy in Georgia including 1900 patients on hemodialysis. Number of these patients is annually increasing in about 20% [10].

Hemodialysis is the most frequent form of treatment for these patients. For the adequate dialysis it is extremely important to have a well functioning vascular access. To date,

native arterio-venous fistula (AVF) is the best choice for vascular access in terms of functional longevity and lowest complication rate. According to the US National Kidney Foundation Guidelines, the upper arm radio-cephalic fistula formed on the non-dominant hand should be the first choice for dialysis access [11].

Although providing the best results, AVF may have some complications. Thrombosis and non-maturation are the

most common complications of AVF. Their prevalence is up to 40% (mean: 25%) [1-3]. Several risk-factors of the complications have been reported like: age > 65 years, female sex, smoking, reoperation, diabetes, systemic cardio-vascular diseases etc. Intraoperative parameters like: technique of vascular anastomosis, vessel size, blood flow rate in the fistula, use of anticoagulants etc. are also important in AVF formation and maturation [1,2,4].

Three different forms of anesthesia can be used for AVF formation: local, general and regional [5,6]. Local anesthesia is the simplest form of analgesia. However, in complex AVFs like basilic vein transposition etc. it is difficult to manage the operation with local anesthesia due to long incision length and extended operative time [5,7]. Besides, complications like vascular puncture and vasospasm are quite frequent in this form of analgesia.

The general anesthesia precludes these limitations. However, significant comorbidities (cardiovascular, respiratory, metabolic disorder etc.) limit use of the general anesthesia in the majority of these patients [8].

Regional anesthesia can overcome all these problems providing complete motor and sensory block without substantial systemic effects. It is well known, that the regional anesthesia increases the blood flow to the limb. It has been shown, that brachial block causes peripheral venous dilation and facilitates the fistula formation [12]. The brachial block is associated with the effect of sympathectomy causing arterious and venous dilation and 2-3-fold increase in the peripheral blood flow intra- and post-operatively [2,6,9,13,14]. The main question arising here is whether this event can influence the operation outcomes like: fistula patency and complication rates? This question is not completely clear. There are very few studies addressing this topic.

Lo Monte et al. [9] found that brachial plexus block was associated with a considerable venous dilation and a significant (48.7%, $P < 0.05$) decrease in pulsatility index (PI) measured by doppler ultrasound, whereas in local anesthesia venous dilation remained unaltered postoperatively. However, the authors didn't find difference in the fistula patency rates. Schenk WG [13] reported that regional anesthesia and immediate preoperative ultrasound is a useful strategy for increasing fistula prevalence.

Thus, according to the existing literature, influence of the type of anesthesia (local, general or regional) on the fistula formation is not well-evaluated. The regional anesthesia should have an advantage over general or local anesthesia in creating the AVFs. This advantage is caused by improved hemodynamics and better safety profile. Yet, this topic is not evaluated enough. The existing studies addressing this subject are few, small and give conflicting results. There is need for a prospective, randomized study comparing ef-

fects of the local and regional anesthesia in the outcomes of AVF operations.

The goal of the study is to assess the influence of type of anesthesia on pain, hemodynamic parameters and outcome in dialysis AVF operations.

Materials and methods. This was a prospective, randomized, controlled clinical study performed in one institution. The patients with ESRD needing dialysis AVF formation have been included in the study. Randomization has been performed as 1:1 by the person not involved neither in anesthesia nor in the operation.

103 patients of both sex have been included in the study. The patients have been randomized in two groups: Group I: 49 patients in whom the operations have been performed under the local anesthesia. Group II: 54 patients in whom the operations have been performed under regional anesthesia.

On the day of operation the patients were asked to fill a query about the perioperative pain, need for additional analgesics intra- and postoperatively, etc. Duration of the operation and the outcomes of surgery have been recorded and analyzed. The numerous analogue scale was used for the assessment of effectiveness of analgesia.

Duplex sonography evaluation of upper arm vessels (arteries and veins) was performed pre-operatively and at 1, 3 and 6 months postoperatively. It was done by 7.5 MHz linear transducer. Following parameters were measured on duplex scan: vessel diameter, blood flow rates (PSV and EDV), resistive index (RI) and pulsatility index (PI).

In the patients from local anesthesia group, 1% lidocaine has been used with the max. dose of 4mg/kg. In regional anesthesia, vertical infraclavicular block has been done under the control of neurostimulation (Nerve stimulator -Multistim sensor. Stimulation needle - Nanoline 50 mm., 25G sprotte canula needle; Pajunk, Germany). 40.0 ml. of 0.5% Naropin solution was injected for brachial plexus block. Intensity of motor and sensory anesthesia has been checked and local anesthetic (1% lidocaine) has been added in case of insufficiency.

Radio-Cefalic, Brachio-Cefalic and one stage Brachio-Basilic transposition fistulas have been performed in all patients. In Brachio-Basilic transposition, subcutaneous injection of 15.0 ml. of 1% lidocaine was added in axilar fossa for n. Intercostobrachialis block. The same surgeon and anesthesiologist performed all the operations.

The results have been analyzed by the computerized statistical program Stat View 5.0., SAS Inc., 1998. The following clinical outcome parameters were analyzed: Intensity of pain (intra and post-operative), duration of

operation, rate of thrombosis and fistula immaturation, time to failure of primary and assisted patency, time to first and persistent cannulation, duration of fistula function, number of interventional procedures per fistula and adverse events. Association between the type of anesthesia and the operation outcomes like: vessel diameters, blood flow characteristics, functional outcomes and complications were analyzed. ANOVA. Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests have been used. $P < 0.05$ was considered as significant difference.

Results and their discussion. The mean patient age was 59.7 ± 13.1 years in Group I and 60.1 ± 14 years in Group II. The age and sex distribution of the patients didn't differ between the groups.

The most frequent reasons of ESRD in both groups were bilateral nephrosclerosis of unknown etiology and diabetic nephropathy followed-up by polycystic kidney disease, myeloma, nephrolythiasis etc..

No significant intraoperative complications have been detected. In Group II complete sensory and motor anesthesia has been achieved in 14.0 ± 2.3 min. In 3 cases (5.5%) incomplete sensory anesthesia occurred with visible vasodilation and motor block. These patients were included in the Group II.

Radio-Cefalic and Brachio-Cefalic fistulas have been performed in the majority of patients. In case of inadequate artery and vein diameters, Brachio-Basilic fistula with I stage transposition has been done (Table 1).

The mean follow-up of the patients was 340.5 ± 14.8 days in Group I and 359.5 ± 14.1 days in Group II ($p = NS$). In 5 (9.2%) patients from the Group II due to the pronounced

vasodilation after anesthesia, the type of operation has been changed to the easier one (Radio-Cefalic). The same has not been detected in the Group I ($p = 0.0298$).

Table 3 shows the influence of type of anesthesia on the clinical parameters like: intensity of intra and postoperative pain, duration of limb immobility, operative time, etc. Duration of operation was significantly different between the groups. For the whole group it was significantly less in regional anesthesia (67.5 ± 8.9 min.) as compared with the local one (134.7 ± 14.8 min.) ($p = 0.0007$). This difference was visible in Brachio-Cefalic ($p = 0.0257$) and Brachio-Basilic fistulas ($p = 0.0001$). In Radio-Cefalic fistulas duration of operation wasn't significantly different between the groups.

Intensity of pain was different between the groups. Need for intra as well as postoperative pain killers was significantly less in Group II as compared with Group I ($p = 0.0363$, and $p = 0.0318$, respectively). Time to postoperative pain initiation was significantly higher in regional as compared with the local anesthesia group. This difference was visible in all patients ($p = 0.0477$), Radio-Cefalic ($p = 0.0400$) and Brachio-Cefalic ($p = 0.0477$) fistulas. Duration of limb immobility was not significantly different between the groups in neither types of operation (Table 2).

The baseline arterial peak systolic velocity (PSV) was negatively correlated with patient age: with increasing age PSV was decreasing (Fig. 1). The correlation was visible in both groups (Fig. 2). The patient age was negatively correlated with end diastolic velocity (EDV) (Fig. 3). Postoperative diameter of fistula vein was associated with the fistula type: it was significantly larger in Brachio-Cefalic and Brachio-Basilic fistulas as compare with the Radio-Cefalic ones (Fig. 4). The PSVs of the AVF blood were also associated with the fistula type (Fig. 5).

Table 1. The types of AVF performed

Type of fistula	Group I (n=49)	Group II (n=54)
Radio-Cefalic	29	22
Brachio-Cefalic	14	18
Brachio-Basilic	7	14

Table 2. Comparison of the clinical parameters between the groups

	All patients		p	Radio-cefalic		p
	Group I	Group II		Group I	Group II	
Pain during operation	56.2	48.1	0.0971	28.3	22.2	0.0873
Need for intraoperative pain killers	57.0	47.4	0.0363	29.0	21.8	0.0374
Need for postoperative pain killers	55.5	44.8	0.0318	29.3	21.6	0.0323
Duration of anesthesia(hr.)	1.77	2.32	0.0477	1.4	2.3	0.0400
Attitude to the type of anesthesia	55.8	48.5	0.1645	28.2	22.3	0.0938
Pain intensity	40	48	0.0985	19.3	24.0	0.1908
Night sleep	51.6	51.3	0.908	25.2	24.1	0.5935
Limb immobility	2.5	1.7	0.2214	1.8	1.3	0.4855
Duration of operation (min.)	134.7	67.5	0.0007	36.5	37.6	0.5447

The baseline arterial peak systolic velocity (PSV) was negatively correlated with patient age: with increasing age PSV was decreasing (Fig. 1). The correlation was visible in both groups (Fig. 2). The patient age was negatively correlated with end diastolic velocity (EDV) (Fig. 3). Postoperative diameter of fistula vein was associated with the fistula type: it was significantly larger in Brachio-Cefalic and Brachio-Basilic fistulas

as compare with the Radio-Cefalic ones (Fig. 4). The PSVs of the AVF blood were also associated with the fistula type (Fig. 5).

Comparison of the hemodynamic parameters between the groups showed, that PSV at visit 2, EDV at visits 2 and 3 were significantly higher in regional as compared with local anesthesia (Fig. 6).

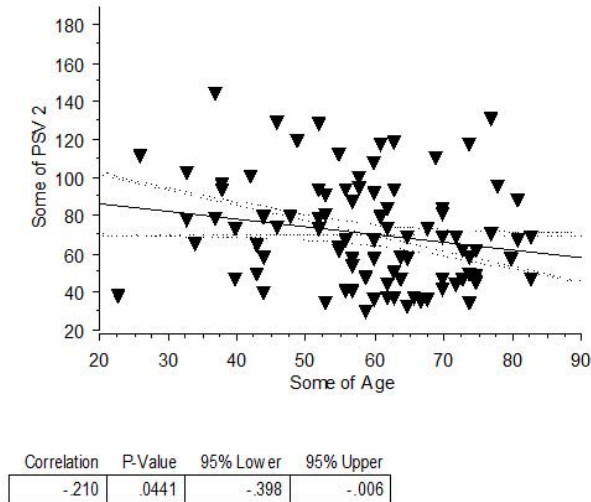


Fig. 1. Correlation between the patient age and PSV

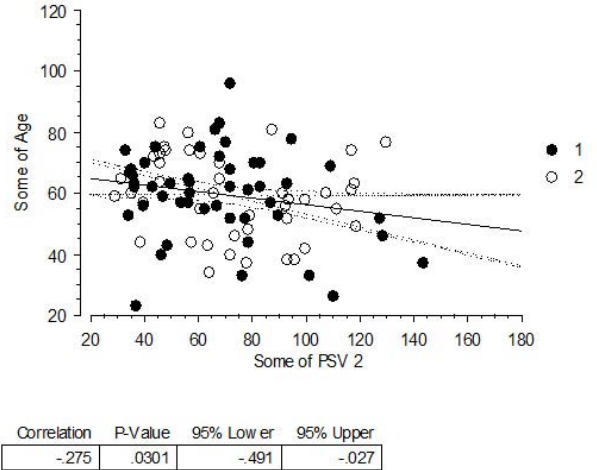


Fig. 2. Correlation between the patient age and PSV within the groups

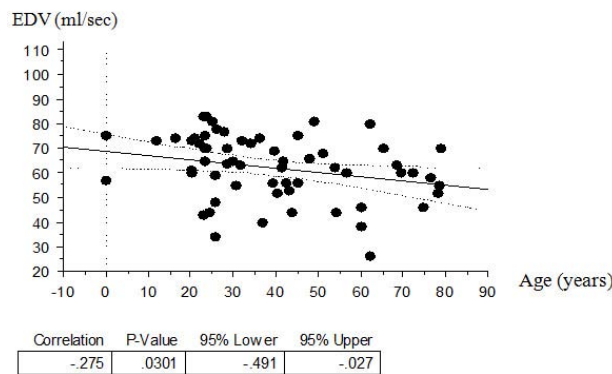


Fig. 3. Correlation between the patient age and EDV

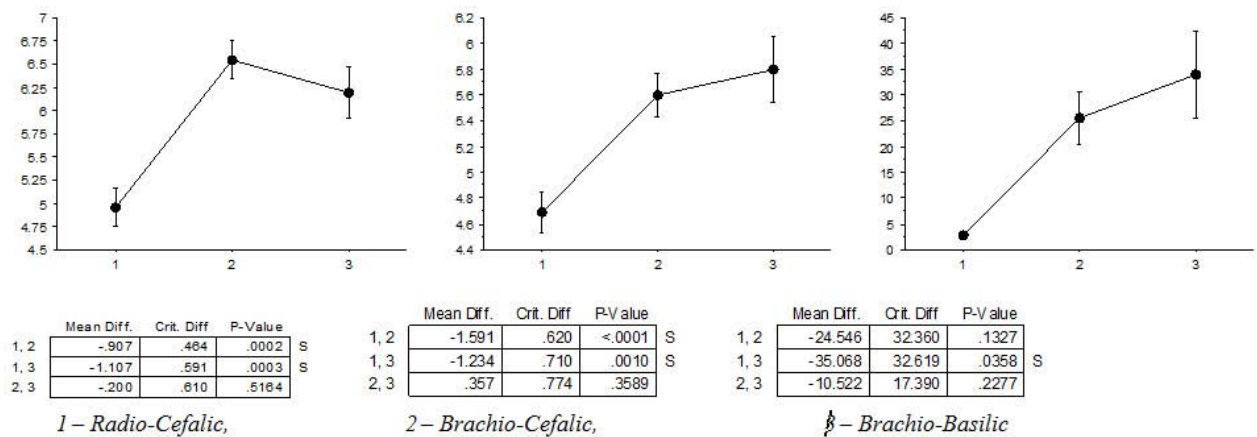


Fig. 4. Vein diameter vs. fistula type

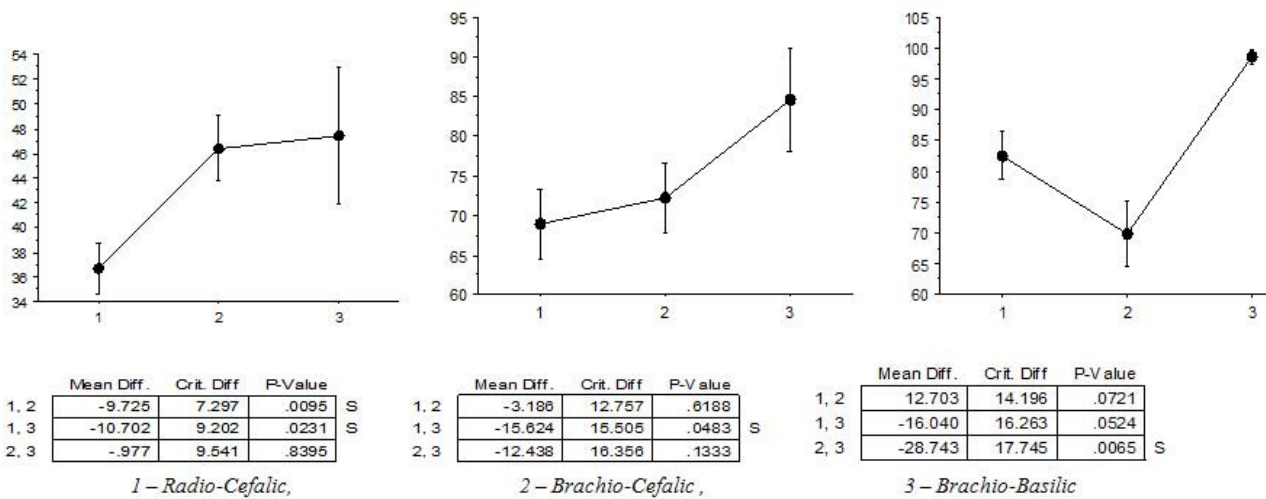


Fig. 5. PSV vs. fistula type

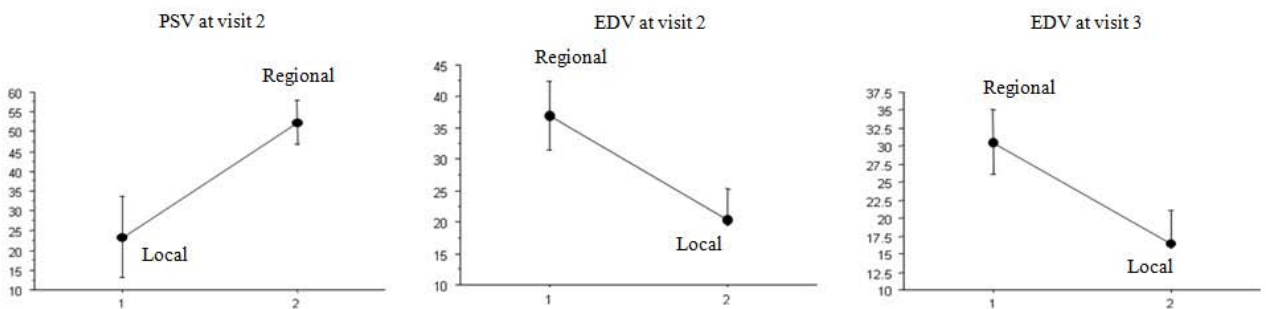


Fig. 6. Comparison of PSV and EDV between the groups

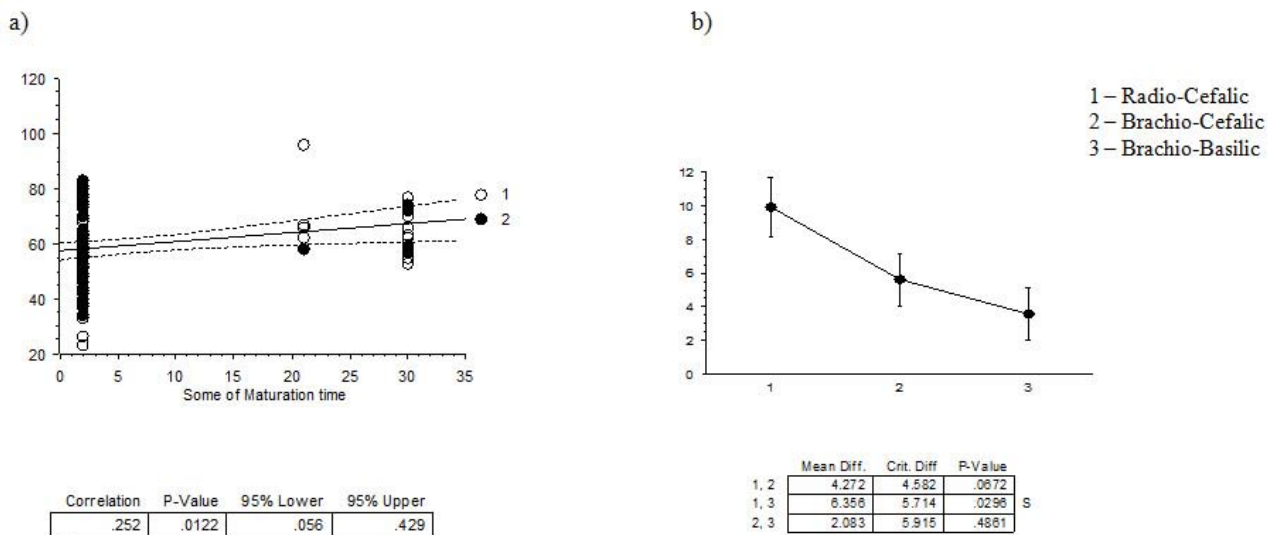


Fig. 7. Correlation of age with: a) fistula maturation time and b) fistula type

The fistula maturation time was correlated with the patient age and fistula type (Fig. 7). The total number of dialysis punctures was significantly higher in regional anesthesia as compared with the local one (Fig. 8). The 1 year fistula thrombosis rate was 18% and non-maturation rate

was 7.8%. There was no statistically significant difference detected in comparison of the following parameters: rate of thrombosis and immaturation, maturation time, time to first puncture and patient survival.

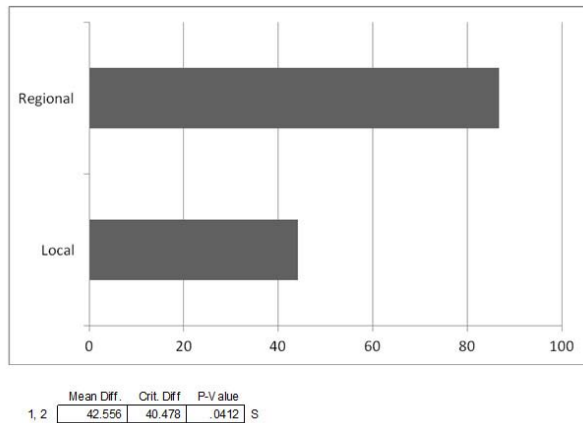


Fig. 8. Comparison of the total number of dialysis punctures between the groups

Conclusion

This prospective, randomized, clinical study has shown that regional anesthesia provides better pain control intra- as well as postoperatively in dialysis AVF operations. It decreases the duration of operation and improves the patient comfort. Due to the vasodilation, type of operation can be changed to the easier one. The regional anesthesia significantly improves the duplex sonography parameters in AVF operations. Longer follow-up will show how much type of the anesthesia can influence the functional outcomes (thrombosis, immaturation etc.). It is easy, safe and effective procedure and should be a method of choice for some type of AVF operations.

Acknowledgment: This study was supported by grant from Shota Rustaveli National Science Foundation # AR/25/8-338/12.

REFERENCES

1. Ahmed I., Pansota M., Tariq M. et al. Arterio-venous (av) fistula: surgical outcome and primary failure rate. JUMDC 2012; 3(1).
2. Alsalti RA., el-Dawlatly AA., al-Salman M. et al. Arterio-venous fistula in chronic renal failure patients: comparison between three different anesthetic techniques. Middle East J Anesthesiol. 1999; 15: 305-14.
3. Cevik H., Mahli A., Coşkun D. The effects of axillary block using the multiple injection method with ropivacaine in uremic and nonuremic patients. Turk J Med Sci. 2012; 42: 457-464.
4. Dukkupati R., de Virgilio Ch., Reynolds T., Dhamija R. Outcomes of Brachial Artery-Basilic Vein Fistula. Seminars in Dialysis 2011; 24: 220-30.
5. Elsharawy M., Al-metwalli R. Does regional anesthesia influence early outcome of upper arm arteriovenous fistula? Saudi journal of kidney diseases and transplantation 2010; 21: 1048-1052.
6. Glover G., Bowie R., Stoves J., et al. Brachial plexus block for formation of arteriovenous fistula is associated

with improved patency. Anaesthesia 2007; 62:425.

7. Hingorani A., Ascher E., Gupta P. et al. Regional Anesthesia: Preferred Technique for Venodilatation in the Creation of Upper Extremity Arteriovenous Fistulae. Vascular 2006; 14: 23-26.
8. Koksoy C, Demirci RK, Balci D, et al. Brachio-basilic versus brachiocephalic arteriovenous fistula: a prospective randomized study. J Vasc. Surg. 2009; 49: 171-177.
9. Lo Monte A., Damiano G., Mularo A., et al. Comparison between local and regional anesthesia in arteriovenous fistula creation. The Journal Of Vascular Access 2011; 12(00): 331-5.
10. National health report, Ministry of Labor, Health and Social Affairs of Georgia. 2009, page 16. http://www.moh.gov.ge/index.php?lang_id=ENG&sec_id=54.
11. NKF-KDOQI Clinical Practice Guidelines for Peritoneal Dialysis Adequacy: Update 2000. Am J Kidney Dis 2001; 37 (suppl 1): S65-S136.
12. Sarigunea D., Mahli A., Coskun D. The extent of blockade following axillary and infraclavicular approaches of brachial plexus block in uremic patients. J Clin Med Res. 2012; 4: 26-32.
13. Schenk WG. Improving dialysis access: regional anesthesia improves arteriovenous fistula prevalence. Am Surg 2010; 76: 938-42.
14. Tawfic T., Agameya H. A clinical and pharmacokinetic comparison of ropivacaine and bupivacaine for supraclavicular brachial plexus block in patients with chronic renal failure. AJAIC 2006; 9(2).
15. U.S. Renal Data System, USRDS 2008 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2008.

SUMMARY

INFLUENCE OF TYPE OF ANESTHESIA ON HEMODYNAMIC PARAMETERS AND OUTCOME OF DIALYSIS ARTERIOVENOUS FISTULA OPERATIONS

¹Shoshiashvili V., ²Tataradze A., ²Beglarishvili L., ²Managadze L., ²Chkhotua A.

¹Martin D. Abeloff Laboratory Cancer Research Center, Tbilisi; ²Al. Tsulukidze National Center of Urology, Tbilisi, Georgia

The goal of the study was to compare effectiveness of regional and local anesthesia in dialysis arterio-venous fistula (AVF) operations.

It was a prospective, randomized study. 103 patients with end stage renal disease underwent AVF operations on upper limb. The patients have been randomly divided in two groups. Group I: 49 patients in whom the operations have

been done under the local anesthesia; and Group II: 54 patients in whom the operation has been performed under the vertical infraclavicular block. Duplex sonography evaluation of upper arm vessels was performed pre-operatively and at 1, 3 and 6 months postoperatively. Following parameters were measured on duplex scan: vessel diameter, blood flow rates (PSV and EDV), resistive index (RI) and pulsatility index (PI).

Significantly less number of patients with regional anesthesia required additional perioperative analgesics as compared with the local anesthesia group. Time to postoperative pain initiation, need for postoperative pain killers was significantly better in Group II as compared with the Group I. Duration of operation was significantly less in regional as compared with local anesthesia. Postoperative PSV and EDVs were negatively correlated with patient age. The fistula maturation time was positively correlated with age. The vein diameter, postoperative PSV and EDV have been significantly increased in Group I as compared with Group II. The postoperative PI has significantly increased and RI has significantly decreased in Group I as compared with Group II. The total number of dialysis punctures was higher in regional as compared with the local anesthesia.

Regional anesthesia provides significantly better analgesia as compared with the local anesthesia in AVF operations. It significantly improves the duplex sonography parameters after AVF formation. It can be a method of choice for some forms of fistulas.

Keywords: dialysis arterio-venous fistula, ESRD, anesthesia.

РЕЗЮМЕ

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕГИОНАЛЬНОЙ И МЕСТНОЙ АНЕСТЕЗИИ ПРИ ОПЕРАЦИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ДИАЛИЗНЫХ АРТЕРИО-ВЕНОЗНЫХ ФИСТУЛ

¹Шошиашвили В.Д., ²Татарадзе А.Р.,
²Бегларишвили Л.А., ²Манагадзе Л.Г.,
²Чхотуа А.Б.

¹Лаборатория им. Мартин Д. Абелофа, Центр исследования рака, Тбилиси; ²Национальный центр урологии им. А. Цулукидзе, Тбилиси, Грузия

Целью исследования явилось сравнение эффективности локальной и региональной анестезий в формировании диализных артерио-венозных фистул (АВФ). Проведено рандомизированное проспективное исследование 103 пациентов: 49 - в группе локальной анестезии (I группа), 54 - в группе региональной анестезии (II группа). Пациентам проводилось дуплекс-сканирование сосудов верхних конечностей перед операцией и 1, 3, 6

месяцев спустя. Фиксировались следующие параметры: диаметр сосудов, систолическая (ССК) и диастолическая скорости кровотока (ДСК), индекс резистентности и пульсации. Продолжительность операции, также как и интра- и постоперационная боль и потребность в болеутоляющих средствах были статистически достоверно меньше при региональной анестезии. ССК и ДСК позитивно коррелировали с возрастом пациентов. Постоперативные гемодинамические показатели были лучше во II группе в сравнении с I группой. Количество диализных пункций было достоверно больше в группе региональной анестезии по сравнению с локальной анестезией.

რეზიუმე

ადგილობრივი და რეგიონული ანესთეზიის გაყენა ტკივილზე და ჰემოდინამიკურ პარამეტრებზე სადიალიზო არტერიო-ვენური ფისტულის ოპერაციების დროს

¹ე. შოშიაშვილი, ²ა. თათარაძე, ²ლ. ბეგლარიშვილი, ²ლ. მანაგაძე, ²ა. ჩხოტუა

¹მარტინ დ. აბელოფის სახ. ლაბორატორია, კიბოს კვლევის ცენტრი, თბილისი; ²ა. წულუკიძის სახ. უროლოგიის ეროვნული ცენტრი, თბილისი, საქართველო

წინამდებარე პროსპექტული, რანდომიზებული კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ანესთეზიის მეთოდების (ადგილობრივი და რეგიონული) ეფექტურობის შედარება ინტრა- და პოსტოპერაციული ტკივილის ინტენსივობაზე და ჰემოდინამიკურ პარამეტრებზე, სადიალიზო არტერიო-ვენური ფისტულის (აფ) ფორმირების დროს. კვლევაში ჩართულ იყო ორივე სქესის 103 პაციენტი, რომლებიც ანესთეზიის მეთოდის მიხედვით, გაიყვნენ ორ ჯგუფად. ადგილობრივი ანესთეზიის ჯგუფში მოხდა 49, ხოლო რეგიონული ანესთეზიის ჯგუფში – 54 პაციენტი. პაციენტებს ჩატარდათ სრული ჰემოდინამიკური გამოკვლევა ოპერაციამდე და ოპერაციიდან 1, 3 და 6 თვის შემდეგ. გაანალიზდა შემდეგი ჰემოდინამიკური პარამეტრები: სისხლძარღვის დიამეტრი, სისხლის ნაკადის სისტოლური (სს) და დიასტოლური (დს) სინქარეები, პულსური (პი) და რეზისტენტობის (რი) ინდექსები. ოპერაციის საშუალო ხანგრძლივობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ ნაკლები იყო რეგიონული ანესთეზიისას, ადგილობრივთან შედარებით. ტკივილის დამატებით გაყენების საჭიროება, როგორც ინტრა- ისე პოსტოპერაციულ პერიოდში, სარწმუნოდ ნაკლები იყო რეგიონული ანესთეზიის გამოყენების შემთხვევაში ადგილობრივთან შედარებით. პოსტოპერაციული სს და დს ნეგატიურ სტატისტიკურ კორელაციაში, ხოლო ფისტულის მომწიფების დრო პოზიტიურ

კორელაციაში იყო პაციენტის ასაკთან. სისხლძარღვის დიამეტრი, ისევე როგორც სს და დს, სარწმუნოდ მაღალი იყო რეგიონული ანესთეზიის ჯგუფში ადგილობრივთან შედარებით. პი მატუ-

ლობდა, ხოლო რი კი კლებულობდა რეგიონული ანესთეზიისას. დიალიზის პუნქციების საერთო რაოდენობა სარწმუნოდ მეტი იყო რეგიონული ანესთეზიის დროს.

IMPORTANCE OF APOPTOSIS MARKERS (MDM2, BCL-2 AND Bax) IN CONVENTIONAL RENAL CELL CARCINOMA

²Saker Z., ²Tsintsadze O., ³Jiqia I., ¹Managadze L., ¹Chkhotua A.

¹A. Tsulukidze National Centre of Urology, ²Department of Urology, ²Department of Pathology;
³Scientific and Practical Center of Clinical Pathology, Tbilisi, Georgia

The survival rate of patients with renal cell carcinoma (RCC) has increased due to the improvements in early diagnosis and surgical treatment of the disease. Yet, 1/3 of patients with localized cancer will develop distant metastasis after radical treatment [11]. Therefore, identification of high-risk patients remains an important problem in the management of the disease. Numerous molecular and chromosomal markers have been evaluated for this purpose with no consensus regarding their significance in RCC [3-5,10]. Tumor stage and grade are currently recognized as independent prognostic factors of the disease. However, the assessment of tumor grade may vary substantially due to subjectivity of the observer [3,4], and the TNM classification of the disease has been recently questioned [1,14]. Therefore, detection of new, more sensitive and specific prognostic markers of the tumor behavior is of utmost importance.

The review of the recent literature clearly shows importance of the apoptosis markers in cancer development. Apoptosis is an essential physiological process for the selective elimination of cells that are involved in a variety of biological events. The best characterized protein family in the regulation of apoptotic cell death is Bcl-2 family. It is an anti-apoptotic protein playing extremely important role in cell division and death [12].

MDM2 is another anti-apoptotic protein. Its importance has been implicated in many human cancers, including: sarcomas, certain hematologic malignancies, breast, colon and prostate cancers. MDM2 over-expression has been related to more aggressive disease and poorer survival [13].

Induction of apoptosis in RCC cell lines was associated with a decrease in expression of the anti-apoptotic proteins, Bcl-2 and Bcl-XL, without marked changes in the pro-apoptotic protein Bax [6]. RCC growth has been related to a significant decrease in the expression of the anti-apoptotic Bcl-2 and increase in pro-apoptotic Bax [7]. While some studies are

showing statistically significant association of Bax and Bcl-2 with patient survival [2], others didn't find association between Bcl-2, Bax and disease outcome [15].

There are limited number of clinical studies on the importance of apoptosis markers in RCC. The sorafenib and nutlin-3 co-treatment of the RCC lead to increase levels of p53, Bax, and decrease in the anti-apoptotic Bcl-2 levels [16]. Increased co-expression of p53 and MDM2 identified those patients with a significantly reduced disease-specific survival by univariate and Cox multiple regression analyses [8]. There are some other recent studies showing that: MDM2 up-regulation is associated with decreased disease-specific survival, and the patients who have tumors that display both the increased p53 and MDM2 expression may have the poorest overall survival [9].

The goal of the current study was to analyze the expression of Bcl-2, MDM2 and Bax in benign and malignant renal tissue samples and assess their possible association with different clinical parameters. Prognostic significance of the markers in recurrence-free and cancer-specific survivals has also been evaluated.

Materials and methods. Patient groups

The study population consisted of 76 consecutive patients treated at our institution. The tissue samples were prospectively collected. All patients (control as well as study group) were operated in one department and all removed kidneys were sent to the department of pathology of the same institution (National Center of Urology). The same team of personnel according to the single protocol has technically processed all the tissue specimens.

The patients were divided in 2 groups: group I: 24 normal human kidney tissue samples resected from patients of different ages due to RCC (67%) and kidney trauma (33%); group II: 52 RCC samples received from 44 radical and 8 partial nephrectomies.

The mean age of patients in group I was 53.4 ± 17 years (range: 21-80 years); 15 (63%) were males and 9 (37%) were females. The mean follow-up is 26 months (range: 2-35 months). None of the patients had clinical signs of renal insufficiency or other substantial co-morbidities (hypertension, acute or chronic pyelonephritis etc.). All of them were free of diabetes. Morphological evaluation revealed mild to moderate degree of age-associated pathological changes in 6 patients.

The mean patient age in group II was 50.8 ± 10.9 years (range: 20-68 years); 25 (48%) were males and 27 (52%) were females. The mean follow-up is 26 months (range: 2-35 months). Radical or partial nephrectomy without adjuvant immunotherapy was performed in all patients. The pathological stage distribution of the tumors was the following: T1 – 21 (40%); T2 – 13 (25%); T3 – 18 (35%) patients. 14 (27%) cancers were G1, 20 (38%) - G2 and 18 (35%) - G3. Morphological evaluation revealed clear cell RCC in all 52 patients. 2 patients had lymph node and 1 patient had distant metastases at the time of surgery. 18 (34.6%) tumors were discovered incidentally, 29 (55.8%) were locally symptomatic and 5 patients (9.6%) had a systemic disease symptoms. All patients were operated on in one department and all removed kidneys were sent to the department of pathology of the same institution. The same team of personnel according to the single protocol has technically processed all the tissue specimens.

Tissue sampling and immunohistochemistry

Resected kidney specimens from the patients of group I were evaluated macroscopically. After sampling according to the main disease, 1.5x2cm tissue samples were taken from 2 separate, most distant from the tumor and macroscopically normal kidney regions. The samples were fixed in 4% formaldehyde and embedded in paraffin. Four micron thick serial sections were stained with hematoxylin and eosin and analyzed by two pathologist (O.T. and Z.H.S). Only the kidneys considered normal and with acceptable age-associated morphological changes (mild interstitial infiltration and/or tubular atrophy) were further immunohistochemically evaluated and included in the study.

Resected kidneys from the patients of group II were evaluated macroscopically. The maximal tumor size was measured and 1.5x2cm tissue samples were taken for further assessment. Specimens were fixed, stained and evaluated by the same pathologist according to conventional technique. The tumors were staged according to the AJCC classification system and graded according to Fuhrman's grading system.

Four micron thick sequential tissue sections were used for immunohistochemistry. Tissue samples were deparaffinized in xylene and rehydrated in graded ethanol (50%-70%-96%). Endogenous peroxidase was blocked by incubation

in 1% hydrogen peroxide. Sections were pretreated by the microwave antigen retrieval procedure (4 cycles for 5min each at 600-700 watt) in 10mmol/L of boiling citrate buffer solution (pH 6.0). The tissue sections were then incubated with primary antibodies against Bcl-2, MDM2 and Bax (Zytomed Sysytems Inc.) diluted (no dilution, 1:200 and 1:100, respectively) in phosphate-buffered saline (PBS). The tissue sections were revealed using the Biotin-Streptavidin detection system (ZytoChem Plus (HRP) kit, Zytomed Sysytems Inc.). Samples were developed with liquid diaminobenzidine + substrate-chromogen system and counterstained with haematoxylin. Human tonsil tissue was used as a positive control while antigen-free PBS as a negative control, according to the established protocols of immunohistochemical staining.

Sample scoring and statistical analysis

Slides were evaluated blindly by two of the authors (O.T. and A.C.). Intensity of nuclear expression of the markers was scored according to the following system: score 0, no staining; score 1, less than 30% cells positive; score 2, 31-50% cells positive; and score 3, more than 50% of cancer cells positive. Cytoplasmic staining was assessed as: score 0, no staining; score 1, mild staining; score 2, moderate staining; and score 3, strong staining.

Statistical analysis was performed using computer software (SPSS 12.0 for Windows, Lead Technologies Inc. 2003. Chicago, IL.). Normality of data distribution was examined with Kolmogorov-Smirnov test. The kappa index for inter-observer concordance was calculated. Age-dependency of the markers' expression was analyzed by the Spearman correlation. Intensity of the markers' expression in the groups was compared with Mann-Whitney test. A possible association of the protein expression with the clinical parameters (stage, grade, disease symptoms, etc.) was analyzed with Kruskal-Wallis test. In case of significant differences the means of data were compared with non-parametric comparison of ranks. Recurrence-free and cancer-specific survival was estimated with the Kaplan-Meier method. The prognostic value of different clinical parameters in the disease recurrence and patient death was analyzed with the log-rank test. The Cox proportional hazards model was used to define the risk factors for tumor recurrence and patient death. Stepwise selection of variables was done to determine the best predictors.

Results and their discussion. Activity of anti-apoptotic markers MDM2 and Bcl-2 were significantly higher in RCC as compared with normal kidney tissues ($p=0.0020$ and $p=0.0216$, respectively) (Fig. 1). In contrast, significantly higher expression of pro-apoptotic Bax has been detected in normal kidney tissues than in RCC. This difference was visible in nuclear ($p=0.0205$) as well as cytoplasmic ($p=0.0209$) activities of the marker (Fig. 2).

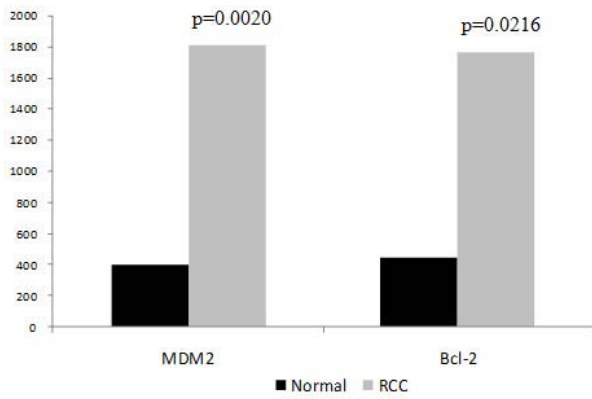


Fig. 1. Comparison of intensity of MDM2 and Bcl-2 activities between the groups

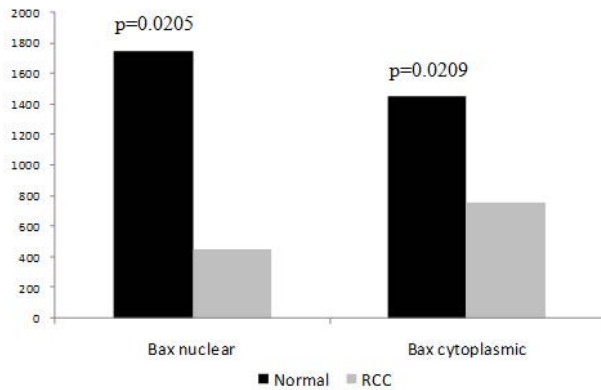


Fig. 2. Comparison of intensity of nuclear and cytoplasmic Bax expressions between the groups

Bax expression was positively correlated with patient age (Rho=0.179, p=0.0076) (Fig. 3).

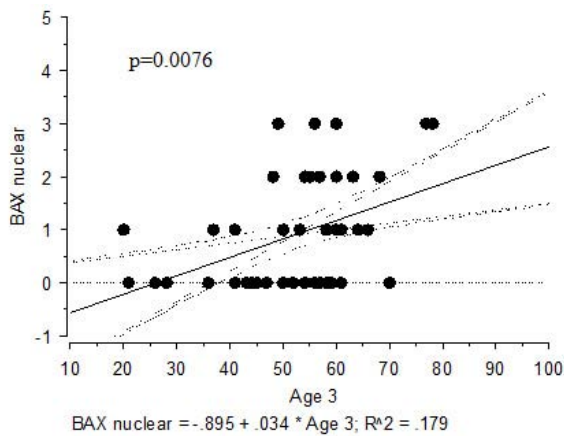
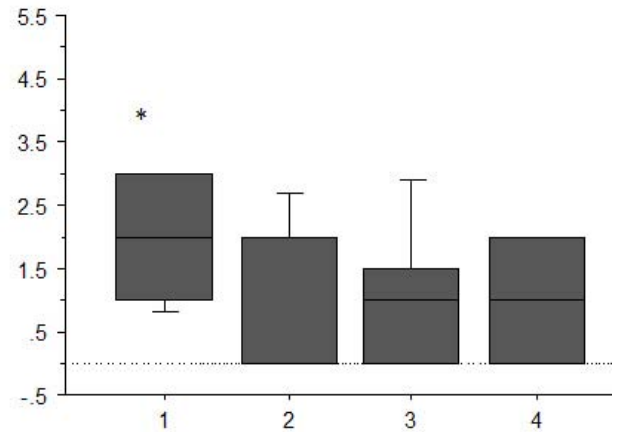


Fig. 3. Correlation of Bax activity with patient age

Significant association has been detected between the evaluated markers and cancer clinical parameters. Nuclear and cytoplasmic activity of Bax was significantly higher in stage I as compared with the stages III and IV (p=0.0206 and p=0.0190, respectively) (Fig. 4). Both, nuclear and

cytoplasmic activity of Bax was negatively associated with tumor grade (p=0.0420 and p=0.0352, respectively) (Fig. 5). The marker's expression was significantly lower in N+ than in N- disease (p=0.0080). The MDM2 activity was significantly higher in metastatic disease, as compared with non-metastatic tumors.



* - p=0.0206 vs. stage III and p=0.0190 vs. stage IV

* - p=0.0206 vs. stage III and p=0.0190 vs. stage IV

Fig. 4. Expression of Bax according to tumor stage

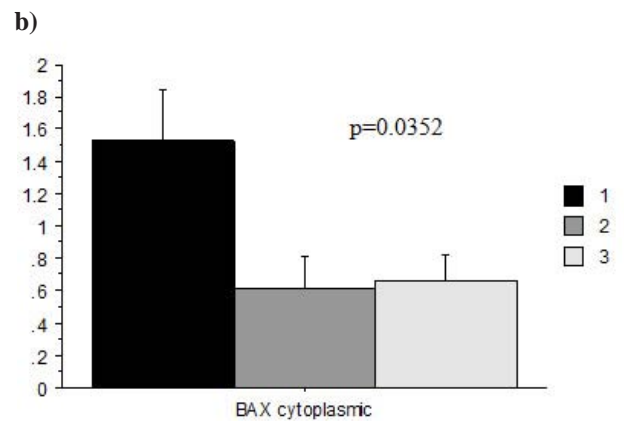
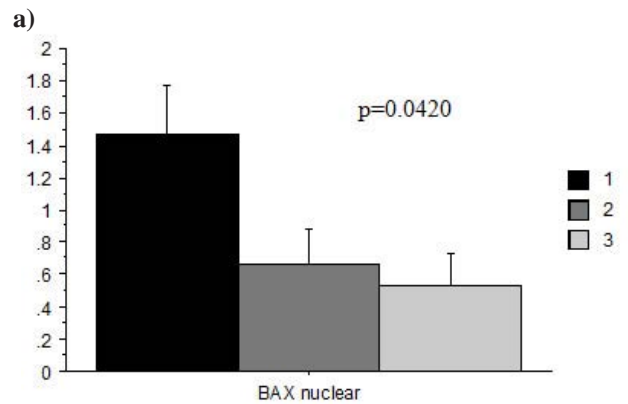


Fig. 5. Nuclear (a) and cytoplasmic (b) expression of Bax according to Furhman's grade

Interesting changes have been detected in markers' activity according to the tumor pathological features. In particular, presence of tumor necrosis was associated with significantly lower MDM2 and Bcl-2 activities (Fig. 6). Presence of microscopic vascular invasion was associated with significantly higher Bcl-2 ($p=0.0144$) and lower Bax activities ($p=0.0439$) (Fig. 7).

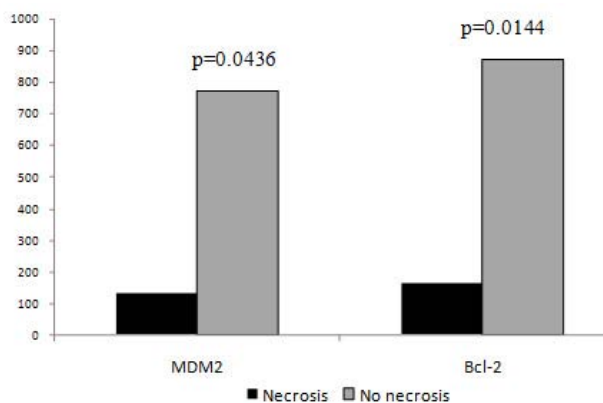


Fig. 6. Comparison of intensity of MDM2 and Bcl-2 activities according to presence of tumor necrosis

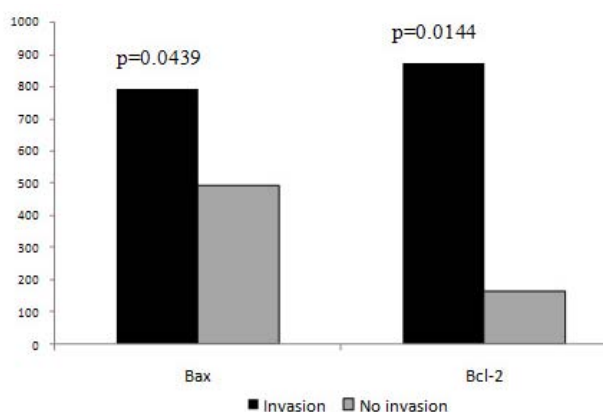


Fig. 7. Comparison of intensity of Bcl-2 and Bax activities according to presence of tumor microvascular invasion

Expression of the markers has been associated with the clinical course of the disease. Nuclear and cytoplasmic activities of Bcl-2 were positively associated with the disease recurrence ($p=0.0111$ and $p=0.0115$, respectively) (Fig. 8). Moreover, time to recurrence was positively associated with Bax activity (Fig. 9). 5-year patient survival was negatively associated with nuclear ($p=0.0443$) and cytoplasmic ($p=0.0429$) MDM2 activities (Fig. 10).

Cox multivariate regression analysis was performed to analyze the risk-factors for disease recurrence and patient death. Tumor size, pathological stage, and grade were identified as significant determinants of patient death and tumor recurrence (Table).

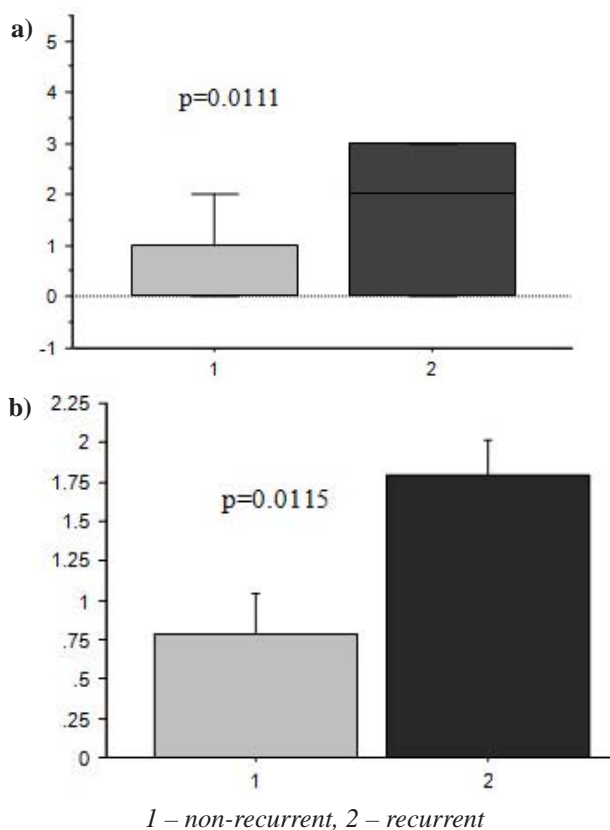
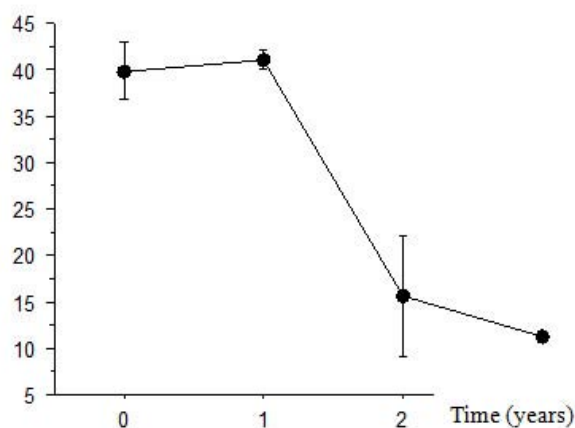


Fig. 8. Nuclear (a) and cytoplasmic (b) activity of Bcl-2 according to tumor recurrence



	Mean Diff.	Crit. Diff	P-Value	
0, 1	-1.118	11.733	.8460	
0, 2	24.216	13.221	.0009	S
0, 3	28.682	10.741	<.0001	S
1, 2	25.333	16.125	.0034	S
1, 3	29.800	14.163	.0002	S
2, 3	4.467	15.419	.5561	

Fig. 9. Association of Bax activity with time to tumor recurrence

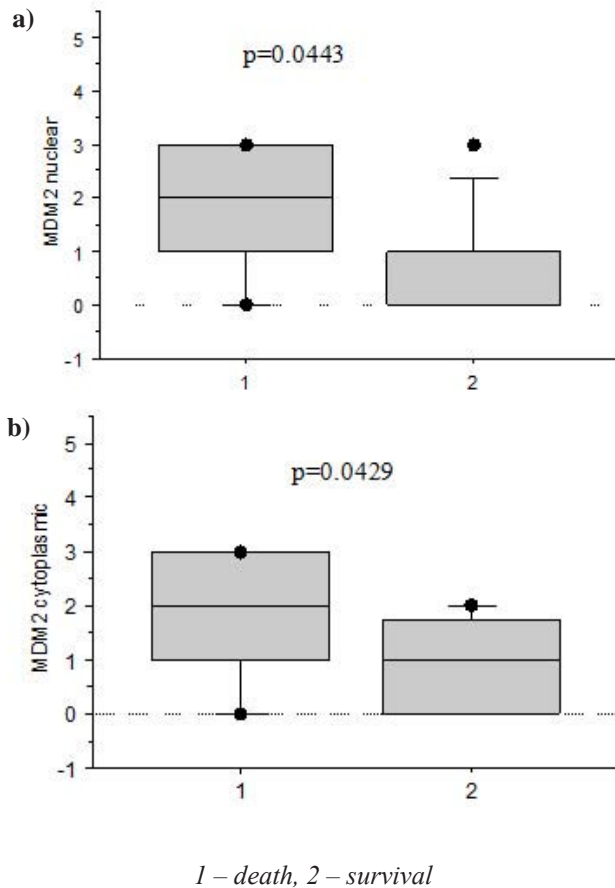


Fig. 10. Association of nuclear (a) and cytoplasmic (b) MDM2 activities with 5-year patient survival

Despite a considerable progress in understanding the basic biology of RCC, many aspects of the disease still remain unclear. This especially concerns the prognostic markers of the tumor recurrence and patient survival. The lack of markers predicting disease outcome is one of the most important problems in RCC.

With better understating of molecular biology and genetics of RCC numerous new markers have been evaluated [3-5,10]. One of the new and promising directions for future research in this area is evaluation of apoptosis markers. Dysregulation of apoptosis results in rapid cellular proliferation and is a hallmark of the cancer development.

Only few studies have evaluated the value of the markers in RCC with conflicting results. Future studies should clarify significance of the apoptosis markers in clinical

practice. There are no studies evaluating combination of the above markers (Bax, MDM2 and Bcl2) in RCC. We think that it may enhance their significance as clinical markers in cancer prognosis. The results of available clinical studies are mostly controversial. A potential shortcoming of these studies is that they assessed the marker expression level qualitatively with a various cut points (10% to 50%) of positively stained cells to predict the disease prognosis. Moreover, in all former studies the markers' expression was assessed in the whole tissue area without separating between different renal (interstitial, tubular epithelial, vascular endothelial and mesangial glomerular) cells. Thus, the question in which tissue structures expression of the proteins was clinically important remains unanswered. There are no studies evaluating the association between the markers' activity in RCC.

In the current study we found that activity of anti-apoptotic MDM2 and Bcl-2 was significantly elevated while activity of pro-apoptotic Bax was decreased in RCC as compared with normal kidney tissues. The new finding of this study is increased expression of Bax with patient age. This underlines importance of apoptosis in the process of aging. Significant association has been detected between the evaluated markers and cancer clinical parameters like: stage, grade, lymph node and distant metastasis. Interesting changes have been detected in markers' activity according to the tumor morphological features in particular, presence of tumor necrosis and microvascular invasion. This finding is also original showing importance of apoptosis on cellular level.

Cox regression analysis has shown that tumor size, pathological stage and grade are the risk factors for disease recurrence and patient death. Although the correlation was low in this study, higher number of RCC samples should be evaluated to elucidate importance of the markers in cancer progression and growth. The significance of tumor size in cancer prognosis has been recognized in other studies, however, there is no consensus concerning the cut-off size of the tumor [4]. In our study the cut-off size of 8cm was associated with the disease recurrence and cancer-related patient death.

The primary results of this study support the value of the assessed markers in RCC and indicate the direction of future research. Further prospective studies with more patients and longer follow-up are needed in this respect.

Table. Results of Cox multivariate regression analysis for disease recurrence and patient death

Parameter	Disease recurrence		Patient death	
	Chi-square	p value	Chi-square	p value
Tumor size	17.5	<0.0001	11.44	0.0007
PT	13.67	0.0011	9.09	0.0106
G	6.13	0.0467	8.39	0.0151

Conclusion

It has been shown by this study, that expression of MDM2 and Bcl-2 is significantly up-regulated, while Bax is down-regulated in RCC as compared with normal kidney tissue. Intensity of the markers' activities is associated with the tumor pathological and clinical parameters like: stage, grade, lymph node and distant metastases, tumor recurrence and patient survival. Further studies with more patients and longer follow-up will uncover the clinical importance of the evaluated markers in RCC.

Acknowledgment: This study was supported by grant from Shota Rustaveli National Science Foundation # FR/409/8-338/12.

REFERENCES

1. de Kernion JB. Reexamination of current staging for renal cell carcinoma. *J Urol* 2005; 173:680.
2. Kallio JP, Hirvikoski P, Helin H, Luukkaala T, Tammela TL, Kellokumpu-Lehtinen P, Martikainen PM. Renal cell carcinoma MIB-1, Bax and Bcl-2 expression and prognosis. *J Urol*. 2004; 172: 2158-6.
3. Kontak JA, Campbell SC. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am* 2003; 30: 467-481.
4. Lam JS, Shvarts O, Leppert JT, et al. Renal cell carcinoma 2005: new frontiers in staging, prognostication and targeted molecular therapy. *J Urol* 2005; 173:1853-1862.
5. Lam JS, Leppert JT, Figlin RA, Belldgrun AS. Role of molecular markers in the diagnosis and therapy of renal cell carcinoma. *Urology* 2005; 66 (S5): 1-9.
6. Morais C, Pat B, Gobe G, Johnson DW, Healy H. Pyrrolidine dithiocarbamate exerts anti-proliferative and pro-apoptotic effects in renal cell carcinoma cell lines. *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21: 3377-88.
7. Morais C, Healy H, Johnson DW, Gobe G. Inhibition of nuclear factor kappa B attenuates tumour progression in an animal model of renal cell carcinoma. *Nephrol Dial Transplant*. 2010; 25: 1462-74.
8. Noon AP, Polański R, El-Fert AY, et al. Combined p53 and MDM2 biomarker analysis shows a unique pattern of expression associated with poor prognosis in patients with renal cell carcinoma undergoing radical nephrectomy. *BJU Int*. 2012; 109: 1250-7.
9. Noon AP, Vlatković N, Polański R, et al. p53 and MDM2 in renal cell carcinoma: biomarkers for disease progression and future therapeutic targets? *Cancer* 2010; 116: 780-90.
10. Oosterwijk E. Tumor markers for renal cell carcinoma. *J Urol* 2005; 173:2150-2155.
11. Pantuck AJ, Zisman A, Belldgrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma. *J Urol* 2001; 166:1611-1623.
12. Poulos CK, et al. Preoperative prediction of Gleason grade in radical prostatectomy specimens: the influence of different Gleason grades from multiple positive biopsy sites. *Modern Pathology* 2005; 18: 228-234.

13. Sakr WA, Scott ML. Potential pathologic markers for prostate chemoprevention studies. *Urol Clin N Am* 2004; 31: 227-235.
14. Shvarts O, Lam JS, Kim HL, Belldgrun AS. Staging of renal cell carcinoma: current concepts. *BJU Int* 2005; 95:8-13.
15. Terakawa T, Miyake H, Kusuda Y, Fujisawa M. Expression level of vascular endothelial growth factor receptor-2 in radical nephrectomy specimens as a prognostic predictor in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *Urol Oncol*. 2013; 31: 493-8.
16. Vatsyayan R, Singhal J, Nagaprashantha LD, Awasthi S, Singhal SS. Nutlin-3 enhances sorafenib efficacy in renal cell carcinoma. *Mol Carcinog*. 2013; 52: 39-48.

SUMMARY

IMPORTANCE OF APOPTOSIS MARKERS (MDM2, BCL-2 AND Bax) IN CONVENTIONAL RENAL CELL CARCINOMA

²Saker Z., ²Tsintsadze O., ³Jiqia I., ¹Managadze L., ¹Chkhotua A.

¹A. Tsulukidze National Centre of Urology, ²Department of Urology, ²Department of Pathology; ³Scientific and Practical Center of Clinical Pathology, Tbilisi, Georgia

The goal of the current study was to analyze the expression of Bcl-2, MDM2 and Bax in benign and malignant renal tissue samples and assess their possible association with different clinical parameters. Prognostic significance of the markers in recurrence-free and cancer-specific survivals has also been evaluated.

Activity of MDM2, Bcl-2 and Bax was evaluated in: 24 normal human kidney tissues resected from the patients of different ages (range: 21-80 years), and in 52 conventional RCC samples. Intensity of the markers' expression was compared between the groups and correlation was analyzed with different clinical parameters.

Activity of anti-apoptotic MDM2 and Bcl-2 was significantly elevated while activity of pro-apoptotic Bax was decreased in RCC as compared with normal kidney tissues. Bax expression was positively correlated with patient age. Significant association has been detected between the evaluated markers and cancer clinical parameters like: tumor stage, grade, lymph node and distant metastases. The markers' activity was associated with the tumor morphological features, in particular: presence of tumor necrosis and microvascular invasion. Disease recurrence and 5-year patient survival were associated with the markers' activity. Cox regression analyses have shown that tumor size, pathological stage and grade are the risk factors for disease recurrence and patient death.

Expression of MDM2 and Bcl-2 is significantly up-regulated, while Bax is down-regulated in RCC as compared with normal kidney tissue. Intensity of the markers' activities is associated with the tumor pathological and clinical parameters (stage, grade, lymph node and distant metastases, tumor recurrence and patient survival). Further studies with more patients and longer follow-up will uncover the clinical importance of the evaluated markers in RCC.

Keywords: Renal cell carcinoma, apoptosis.

РЕЗЮМЕ

ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА (MDM2, BCL-2 И Bax) ПРИ ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ

²Сакер З.Х., ²Цинцадзе О.В., ³Джикия И.Д.,
¹Манагадзе Л.Г., ¹Чхотуа А.Б.

¹Национальный центр урологии им. А. Цулукидзе, департамент урологии, ²департамент патологии; ³Научно-практический центр клинической урологии, Тбилиси, Грузия

MDM2, BCL-2 и Bax являются протеинами, участвующими в процессе апоптоза. Целью данного исследования явилось изучение роли данных маркеров в развитии плоскоклеточного рака (ПР). Изучена активность MDM2, BCL-2 и Bax в различных тканевых структурах: 24 нормальные почки (НП) и 52 - ПР. Проанализирована связь между активностью маркеров и различными клиническими параметрами. Активность MDM2 и BCL-2 была повышена, а активность Bax – понижена при ПР в сравнении с НП. Активность Bax возрастала с увеличением возраста пациентов. Уровень активности маркеров статистически достоверно коррелировал со следующими клиническими параметрами заболевания: стадия, степень дифференциации, региональные и дистальные метастазы; уровень экспрессии маркеров коррелировал с рецидивом заболевания и 5-летней выживаемостью пациентов. Согласно Cox статистическому анализу, риск-факторами рецидивирования рака

и смерти пациентов являлись размер, стадия и степень дифференциации рака.

რეზიუმე

აპოპტოზის მარკერების (MDM2, Bcl-2 და Bax) როლი თირკმლუჯრედოვანი კიბოს დროს

²ზ. საკერი, ²ო. ცინცაძე, ³ი. ჯიქია, ¹ლ. მანაგაძე,
¹ა. ჩხოტუა

¹ა. წულუკიძის სახ. უროლოგიის ეროვნული ცენტრი, უროლოგიის დეპარტამენტი, ²პათოლოგიის დეპარტამენტი; ³კლინიკური უროლოგიის სამეცნიერო-პრაქტიკული ცენტრი, თბილისი, საქართველო

MDM2, Bcl-2 და Bax აპოპტოზის მარკერული რეგულირებადი პროტეინებია. აღნიშნული კვლევის მიზანს წარმოადგენს ამ მარკერების როლის შესწავლა თირკმლუჯრედოვანი კიბოს (თკ) დროს. შესწავლილია MDM2, Bcl-2 და Bax-ის აქტივობა: 24 ნორმალური თირკმლის და 52 თკ-ს სხვადასხვა ქსოვილოვან სტრუქტურა-ში. შეფასდა მარკერების აქტივობის კორელაცია მთელ რიგ კლინიკურ პარამეტრებთან. MDM2-სა და Bcl-2-ის აქტივობა სარწმუნოდ მაღალი იყო, ხოლო Bax-ის აქტივობა სარწმუნოდ დაბალი იყო თკ-ს დროს ნორმალურ თირკმლის ქსოვილთან შედარებით. Bax-ის აქტივობა სარწმუნოდ ძლიერდებოდა პაციენტის ასაკის მატებასთან ერთად. სტატისტიკურად სარწმუნო კორელაცია გამოვლინდა შესწავლილი მარკერების აქტივობასა და დაავადების კლინიკურ პარამეტრებს შორის, როგორცაა: სტადია, დიფერენციაციის ხარისხი, რეგიონული და დისტალური მეტასტაზების არსებობა. მარკერების ექსპრესიის ინტენსივობა, ასევე კავშირში იყო დაავადების რეციდივირებასა და პაციენტთა 5-წლიან სიკვდილიანობის მაჩვენებელთან. Cox-ის მულტივარიაციული რეგრესიის ანალიზით, სიმსივნის რეციდივირებისა და პაციენტთა სიკვდილიანობის რისკ-ფაქტორები იყო: სიმსივნის ზომა, სტადია და დიფერენციაციის ხარისხი.

NONOBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA, FOLLICLE-STIMULATING HORMONE AS A MARKER OF SUCCESSFUL SPERM RETRIEVAL

Khelaia A., Saker Z., Tsintsadze O., Managadze L.

A. Tsulukidze National Centre of Urology, Department of Urology, Tbilisi, Georgia

Azoospermia is the absence of spermatozoa in ejaculate even after semen centrifugation at least two times. Azoospermia due to spermatogenic failure – non-obstructive azoospermia (NOA) observed in 1% of population and in 10-15% of infertile men. Testicular sperm extraction (TESE) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was devised by Palermo et al. in 1992 and first pregnancy was reported in 1993 [4]. This approach revolutionized treatment in this cohort of infertile men. Testicular spermatozoa can be retrieved in most men with NOA because of the existence of isolated foci of active spermatogenesis. Predictive factors for the presence of spermatozoa in testis are still under debate. These factors are: follicle-stimulating hormone (FSH), inhibin B, testicular volume, testicular histopathology, protamine PCR ratio and others [2]. FSH play an important role in regulating spermatogenesis. FSH increases spermatogonial number and maturation of spermatocytes, including meiosis, but it is unable to complete spermatogenesis. In cases of azoospermia due to severely damaged germ cells, serum FSH levels are usually elevated. So, serum FSH levels reflect the state of seminiferous epithelium [7].

Materials and methods. Our retrospective review included last 81 men with azoospermia who were consulted from September 2014. According clinical evaluation in 10 cases were suspected as obstructive azoospermia and were excluded from our study. In NOA 71 men (mean age 29.8 years) FSH level was detected in 68 cases. Mean serum FSH was 16,47 mU/ml (range 0,2 – 102,51 mU/ml). In 7 cases Klinefelter syndrome was detected, with mean serum FSH level 48 mU/ml (range 20,6 – 102,51 mU/ml).

In 37 men with normal karyotype testicular sperm extraction was done. The main method of testicular sperm extraction was percutaneous testicular sperm aspiration (TESA) with 19 G “butterfly” needle and vacuum applied with 10 ml medium in syringe. Procedure was done under general sedation. Multiple passes were performed in random way throughout the testis (uni or bilaterally) until tissue was visible in needle tube. The specimen is split and send in media for live sperm analysis by embryologist (Fig. 1) and in the same way was sent to standard histology in Bouins solution (in 23 cases). First time in Georgia histological evaluation of testicular tissue samples in NOA was done.

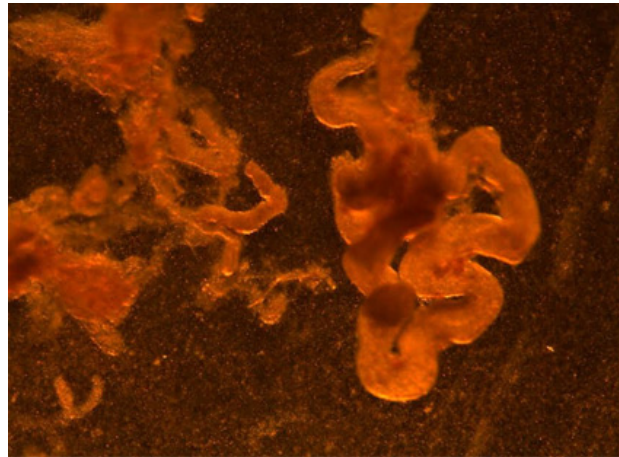


Fig. 1. Large tubules have a high possibility of including full spermatogenesis, thin tubules contain only Sertoli cells without germ cells

In operated group of men mean FSH level was 14,43 mU/ml (range 0,2 – 40,14 mU/ml).

Results and their discussion. Sperm retrieval rate (SRR) was 46%, in 17 cases from 37. In men were sperm was found mean serum FSH was 9,0 mU/ml (range 0,2-40,1 mU/ml). At the same time in cases were sperm wasn't found mean serum FSH was 18,4 mU/ml (range 6,0-42,3 mU/ml) (Fig. 2).

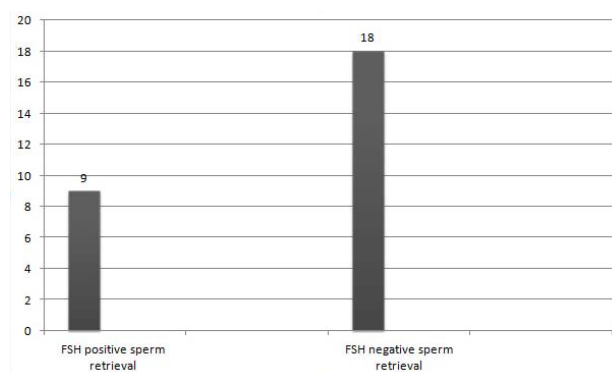


Fig. 2. Sperm retrieval rates and serum FSH levels

According serum FSH levels we divided our men in three groups: FSH <10 mU/ml, 10-15 mU/ml and >15 mU/ml. We tried to evaluate SRR in accordance serum FSH level and find significant difference. In 17 men with FSH <10

mU/ml SRR was 76% (in 13 cases), in 4 men which FSH was 10-15 mU/ml SRR was 0% and finally SRR was 25% when FSH was >15 mU/ml (4 cases from 16) (Fig. 3).

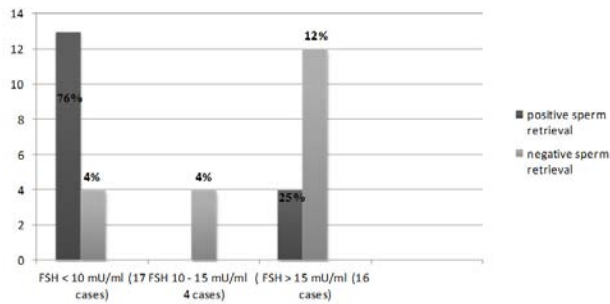


Fig. 3. Sperm retrieval rates stratified by serum FSH level division

In our cohort of cases with random percutaneous testicular sperm aspiration (TESA) SRR rate was 46%. However SRR less than 50% were observed in larger series. Ramasamy et al. in 460 cases find SRR by conventional TESE 32% [5]. TESA has been known for decades as a simple, minimally invasive approach for sperm retrieval. Of course today “gold” standard for NOA is a micro-TESE, which was proposed by Peter N. Schlegel, but SRR as we can see again from Ramasamy study was 57%. In our modification TESA with multiple random samples taken from different sites of the testis have higher SRR than men with a single biopsy sample taken. At the same time conventional TESE – open biopsy with removal of large samples of testicular tissue could lead to testicular atrophy. However Christian et al. find in men after failed TESA a limited chance of SRR using micro-TESE [3]. In our experience after failed TESA conventional open – TESE was also unsuccessful (data not included in this study).

But what is the main predictive factor for sperm retrieval success? Surgical technique or embryologist experience? It is very debate quation and still today there is no complete answer. May be very expensive laboratory evaluation before biopsy, most of them only experimental and far away from routine clinical practice. The chance of Klinefelter syndrome is 10 – 15 % in cases of NOA and severe oligospermia. In our cases 7 from 46 men (15%). This investigation can be done in Georgia. But Y-chromosomal microdeletions PCR detection, which can be find in 4% of men with azoospermia, is not possible to do in our country. In our practice we sent blood samples to special centers abroad to exclude AZFa, AZFb and AZFc deletions. For men with complete AZFa or AZFb deletions testicular biopsy is not recommended (0% of SRR), only in AZFc men we can find spermatozoon and this genetic disorder will be obligatorily transmitted to the son [6]. In all our cases we excluded Y-chromosomal microdeletions. And what about FSH? It is easy to done, it is very important player in spermatogenesis. According to our results the best FSH level for SRR is <10 mU/ml – SRR 76%, the worst 10 – 15

mU/ml with SRR 0%. On the other hand even in cases of FSH 40 mU/ml sperm retrieval is possible [6]. We try to explain this phenomen. Our important finding is in agreement with Peter N. Schlegel team study. In their study men with FSH 10 – 15 mU/ml and testicular volume > 15 cc had SRR 6,7% [1]. Explanation of this phenomen is histological status within the testis. Sertoli cell-only syndrome men, even with normal or moderately elevation (up to 15 mU/ml) of FSH level may have a larger number of Sertoli cells with normal testicular volume. This combination provides feedback to the hypothalamic-pituitary-gonadal axis (HPG) which suppress FSH secretion. As the result we didn't find sperm in such cases. This situation is very closed to maturation arrest (Fig. 4).

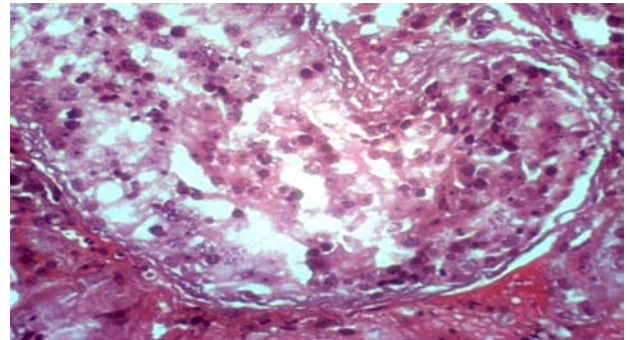


Fig. 4. Maturation arrest, absence of round spermatids. NOA man, FSH 6,5 mU/ml

Those men with higher FSH may represent increased heterogeneity in spermatogenesis and a better possibility to find spermatozoon. On the other hand, some men with lower FSH levels (<10 mU/ml) may have more feedback to the HPG axis as a result of complete spermatogenesis. So, at this moment we come to crucial point of discussion – histomorphology within the testis in NOA. For us this is a main feedback for sperm retrieval and in each case of positive or negative results we try to find explanation in morphological situation within testis. We have preliminary results and study in this way in progress.

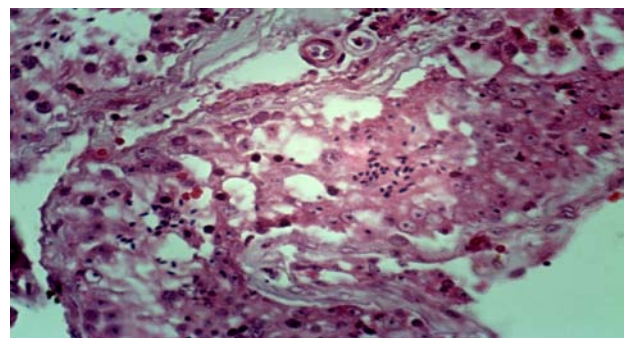


Fig. 5. Hypospermatogenesis with consistent proportion of germ cells at each stage of development, including spermatozooids

Conclusions: the development of ICSI revolutionized management of azoospermia. In our practice we advised TESA as a first step and FSH can predict the success. TESA

it is not only a diagnostic procedure to define the level of spermatogenesis, but also a therapeutic technique to retrieve sperm for ICSI. Also, in cases of negative results after TESA and hypospermatogenesis by histopatology (Fig. 5) we advised re – TESA after 3 – 6 months.

REFERENCES

1. Berookhim B.M. et al. Microdissection testicular sperm extraction in men with Sertoli cell – only testicular histology. *Fertil Steril.* 2014; 102(5): 1282-6.
2. Boitrelle F. et al. A predictive score for testicular sperm extraction quality and surgical ICSI outcome in non-obstructive azoospermia: a retrospective study. *Hum Reprod* 2011; 26:3215-21.

3. Christian F.S. et al. 30 th EAU congress abstract book N 290. Madrid, Spain: 2015.
4. Palermo G. et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340: 17-18.
5. Ramasamy R. et al. Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction. *Urology* 2005;65: 1190-4.
6. Ramasamy R. et al. High serum FSH levels in men with nonobstructive azoospermia does not affect success of microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril* 2009; 92: 590-3.
7. Tilbrook A. et al. Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotropin-releasing hormone in males. *Biol Reprod.* 2001; 64: 735-42.

SUMMARY

NONOBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA, FOLLICLE-STIMULATING HORMONE AS A MARKER OF SUCCESSFUL SPERM RETRIEVAL

Khelaia A., Saker Z., Tsintsadze O., Managadze L.

A. Tsulukidze National Centre of Urology, Department of Uro pathology, Tbilisi, Georgia

Testicular sperm extraction (TESE) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was revolutionized treatment of infertile men with azoospermia. Predictive factors for the presence of spermatozoa in testis are still under debate. Serum FSH levels reflect the state of seminiferous epithelium. Serum FSH has been evaluated as a predictor of success sperm retrieval rate (SRR) in NOA (37 cases 46XY men), but even among men with the highest FSH (30,0 - 40,0 mU/ml) spermatozoon was found. Men with FSH serum level 10 – 15 mU/ml had the SRR 0%. TESA is as a simple, minimally invasive approach for sperm retrieval. In our

study sperm retrieval rate was 46%. In our practice we advised TESA as a first step and FSH can predict the success. TESA it is not only a diagnostic procedure to define the level of spermatogenesis, but also a therapeutic technique to retrieve sperm for ICSI. Also, in cases of negative results after TESE and hypospermatogenesis by histopatology we advised re-TESE after 3-6 months.

Keywords: nonobstructive azoospermia, male infertility, testicular sperm extraction, TESA, TESE, FSH, sperm retrieval rate, ICSI.

РЕЗЮМЕ

НЕОБСТРУКТИВНАЯ АЗОСПЕРМИЯ, Фолликулостимулирующий гормон КАК МАРКЕР УСПЕХА ПРИ ПОИСКЕ СПЕРМАТОЗОИДОВ

Хелая А.В., Сакер З.Х., Цинцадзе О.В., Манагадзе Л.Г.

Национальный центр урологии им. А. Цулукидзе, департамент уропатологии, Тбилиси, Грузия

Тестикулярная экстракция сперматозоидов (TESA) и их интрацитоплазматическая инъекция в яйцеклетку (ICSI) в корне изменила тактику лечения при азооспермии. Факторы успеха при поиске сперматозоидов обсуждаются по сей день. Уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в крови отображает состояние семенных тубул. Целью исследования явилось оценить уровень фолликулостимулирующего гормона как маркер успеха при поиске сперматозоидов (37 случаев не-обструктивной азооспермии, с кариотипом 46 XY). При уровне ФСГ 10-15 mU/ml процент успеха составил 0.

При ФСГ <10 mU/ml сперматозоиды были найдены в 76% случаев, однако и при ФСГ 30-40 mU/ml сперматозоиды были обнаружены. TESA - простой и малоинвазивный метод, позволяющий находить сперматозоиды в 46%. В случаях не-обструктивной азооспермии нами предложен метод TESA как первый этап и уровень ФСГ, который на основании полученных данных позволяет прогнозировать процент успеха. TESA - это не только диагностический, но и лечебный метод, так как найденные сперматозоиды используются для ICSI. В случае отрицательного результата при

первой попытке и наличии гипосперматогенеза после гистоморфологического исследования авторы статьи советуют паре повторную TESA спустя 3-6 месяцев.

რეზიუმე

არაობსტრუქციული აზოოსპერმია, ფოლიკულომასტიმულირებელი ჰორმონის, როგორც სპერმატოზოიდების მოძიების მარკერი

ა. ხელიაია, ზ. საკერ, ო. ცინცაძე, ლ. მანაგაძე

ა. წულუკიძის სახ. უროლოგიის ეროვნული ცენტრი, უროპათოლოგიის განყოფილება, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ფოლიკულომასტიმულირებელი ჰორმონის, როგორც სპერმატოზოიდების მოძიების მარკერის შეფასება.

სათესლე ჯირკვლიდან სპერმატოზოიდების ექსტრაქციამ (TESA) და კვერცხუჯრედში ინიექციამ (ICSI) მკვეთრად შეცვალა აზოოსპერმიის მართვის ტაქტიკა. დებატები თუ რა ფაქტორები განაპირობებს სპერმატოზოიდების მოძიების შედეგს დღესაც აქტუალურია. მიზ-

ნეულია რომ, ფოლიკულომასტიმულირებელი ჰორმონის (ფმპ) დონე შრატში განსაზღვრავს სათესლე ჯირკვალში სპერმატოგენეზის და მილაკების მდგომარეობას. ჩვენ შევეცადეთ შევეფასებინა ფმპ როგორც შედეგის მარკერი სპერმატოზოიდების მოძიების დროს (37 მამაკაცი არაობსტრუქციული აზოოსპერმიით, ნორმალური კარიოტიპით). სპერმატოზოიდები მიღებული იქნა 46%-ში. მაქსიმალური შედეგი – 76% მიღებული იქნა როდესაც ფმპ დონე იყო <10 mU/ml. როდესაც ფმპ-ს დონე იყო 10-15 mU/ml სპერმატოზოიდები არ იქნა ნანახი. მიუხედავად ამისა სპერმატოზოიდები მოძიებული იქნა მომატებული ფმპ-ს (30-40 mU/ml) დროს – 26%-ში.

TESA წარმოადგენს სპერმატოზოიდების მოძიების მარტივ და ნაკლებად ტრავმულ მეთოდს. არაობსტრუქციული აზოოსპერმიის დროს ეს ჩარევა ატარებს არა მხოლოდ დიაგნოსტიკურ, არამედ სამკურნალო ხასიათს, ვინაიდან მოძიებული სპერმატოზოიდები გამოყენებული იქნება ICSI-ის დროს. იმ შემთხვევაში, როდესაც სპერმატოზოიდები არ იქნება მოძიებული და სათესლე ჯირკვლის ქსოვილის მორფოლოგიური შესწავლით იქნება გამოვლენილი ჰიპოსპერმატოგენეზის სურათი, ნაჩვენები არის განმეორებითი TESA 3-6 თვის შემდეგ.

PARTIAL ANOMALOUS PULMONARY VENOUS CONNECTION WITH INTACT ATRIAL SEPTUM: A CASE REPORT

Urushadze O., Mtvaradze A., Nemsadze G., Liparteliani N.

Tbilisi State Medical University First University Clinic, Georgia

Partial anomalous pulmonary venous connection (PAPVC) is a rare congenital abnormal cardiac defect in which blood from pulmonary circulation drain into the right atrium (RA) instead of left atrium (LA). Right-sided pulmonary veins connect directly to right atrium, or superior vena cava, inferior vena cava, azygos vein, portal and liver veins [4,14,25]. Left-sided pulmonary veins connect to left brachiocephalic vein, coronary sinus, and hemiazygos vein [17]. Drainage of the right vein into the RA or the superior vena cava (SVC) is the most common type of PAPVC. It can be present as isolated disease, but combination with other congenital pathologies is more common. Most commonly PAPVC are accompanied with atrial septal defect (ASD) [10,16].

On the other hand, patients with ASD have coexistence of PAPVC in 10-15% of cases.

Materila and methods. Case report

A 42 year old patient was present with a history of operation on hemorrhoid disease and rectal polypectomy. 12 days after procedure patient developed tachypnoe, shortness of breath, high temperature, fatigue. Laboratory investigation showed leukocytosis, elevated D-dimmer level. No deep vein thrombosis was identified on Doppler ultrasound scan. Patient was send to CTPA scan for excluding or confirming pulmonary artery thrombosis. Findings were of segmental and sub-segmental thrombosis with infiltrative changes in lung parenchyma (Fig. 1).

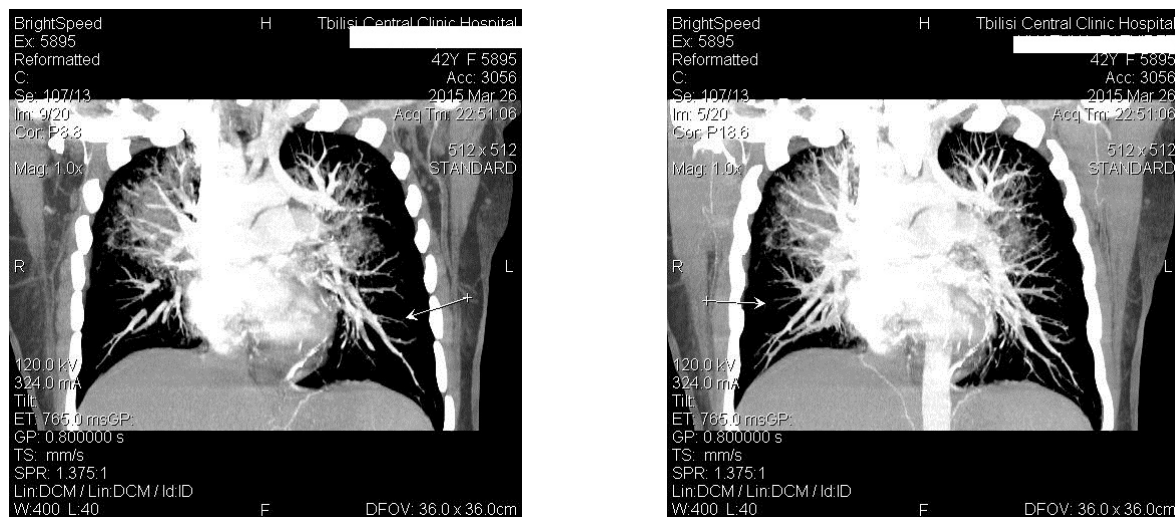


Fig. 1. CTPA MIP volume reconstruction images showing thrombosis of both side segmental and sub-segmental pulmonary arteries

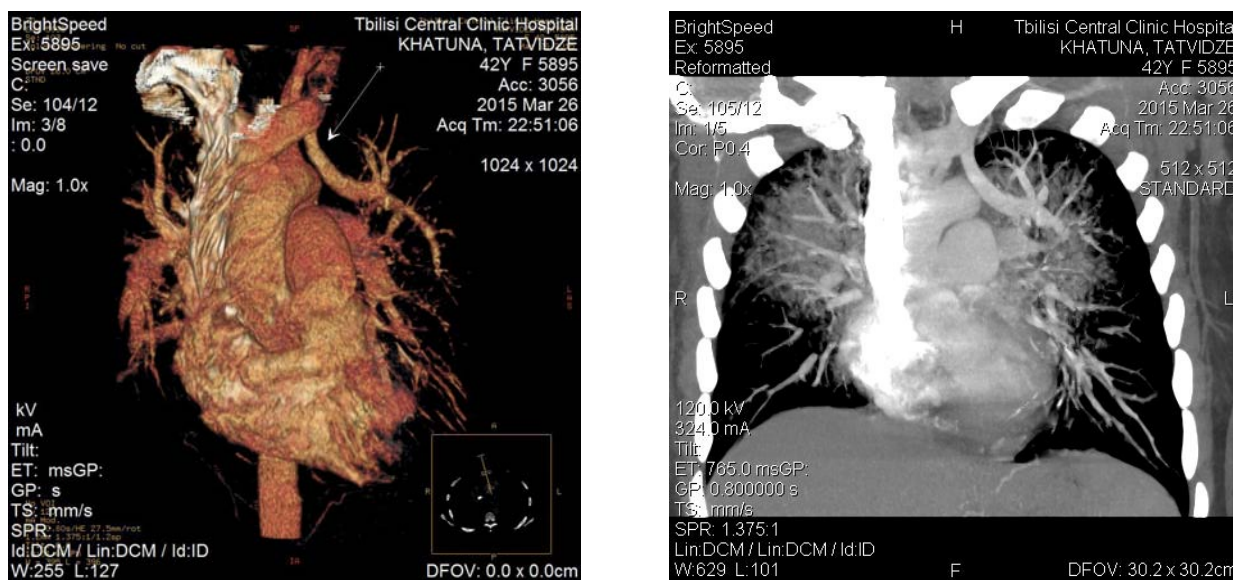


Fig. 2. Contrast enhanced MDCT of thorax, 3D VR reconstruction shows left upper lobe pulmonary vein connection with left brachiocephalic vein

During the examination we found left sided PAPVC connected with the left brachiocephalic vein (Fig. 2). Patient received treatment for pulmonary thrombosis: CPAP, oxygeno-, antibiotic and anticoagulation therapy and was subjectively well on discharge. The decision of not to operate the PAPVC was made, because of the fact that patient was asymptomatic. Patient was advised to be under observation for dynamic control.

Results and their discussion. Partial anomalous pulmonary venous connection (PAPVC) is a rare congenital anomaly. The majority of PAPVC has one anomalous pulmonary vein and more than one anomalous vein are also rarely reported [7]. The diagnosis can be missed easily, in up to 25% of patients, the accurate determination of either the number or sites of anomalous connecting pulmonary veins

is problematic or impossible. Therefore, further knowledge of the variation patterns of the pulmonary venous drainage is necessary in order to diagnose PAPVC [2].

PAPVC is discovered by 0.4 to 0.7% of cases in autopsy series [5]. Often it is combined with other congenital anomalies. Moreover, at least one anomalous pulmonary venous connection is present in about three quarters of the patients diagnosed with asplenia syndrome. Up to 90% of the PAPVC cases are accompanied by ASD. Asymptomatic PAPVC without ASD is very rare. PAPVC from the right pulmonary veins occurs ten times more frequently than the connection initiated from the left pulmonary veins. Additionally, PAPVC from left pulmonary vein with intact atrial septum, as it is presented in our case is extremely rare. In most cases pathologic veins are connected to right atrium or superior vena cava.

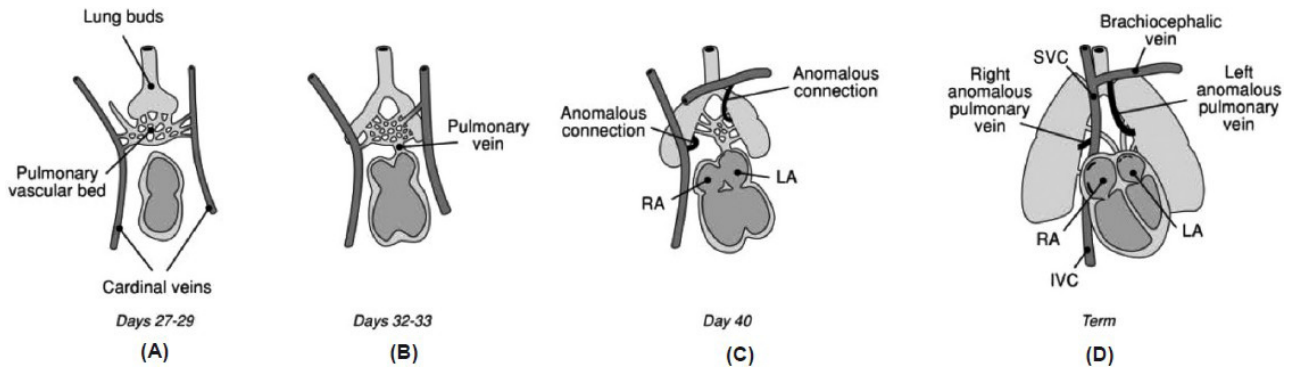


Fig. 3. Embryonic development of PAPVC

All PAPVC-s are left to right shunts, but because more than 50% of blood drains to left heart clinical manifestations develop not so often [20]. Symptoms depend on the volume of returned blood into the right atrium. Symptoms may also occur in older patients and may be secondary to right-sided volume overload or pulmonary vascular obstructive disease. Cardiac arrhythmia detected on a routine clinic visit, an occasionally detected cardiac murmur as well as a widely split second heart sound, can be the first signs of PAPVC. Some patients complain of tachypnea, repeated pulmonary infections and or limitation of physical exercise. On physical examination, marked stridor can be auscultated. Additionally pulmonary edema, hypoxemia, cyanosis and growth failure may appear [8, 22]. No developing risk factors are identified yet.

Embryonic development of the pulmonary veins occurs early in development of the cardiovascular system (Fig. 3). The main theory is that the initial drainage is via the splanchnic plexus into the cardinal and umbilical vitelline. A craniocaudal outpouching forms in the sinoatrial region of the heart with extension to lung buds. As caudal regression occurs, the cranial portion develops into the common pulmonary vein, which is incorporated into the left atrial wall. Partial anomalous pulmonary venous return occurs due to failure of connection between the common pulmonary vein and the splanchnic plexus [27].

PAPVC is usually diagnosed by transthoracic echocardiography (TTE), transesophageal echocardiography (TEE), or catheter angiography [4]. The information provided by echocardiography is sometimes not sufficient. Besides, pulmonary angiography by right heart catheterization is invasive imaging method and might not reveal details about the anatomy of small accessory and anomalous vessels. Another examination such as multidetector computed tomography (MDCT) scan is fast, noninvasive, high resolution imaging method which is helpful in defining ASDs and PAPVR on the current step of development of medical technologies. ECG-gated MDCT, spatial resolution, multidimensional reconstructions with the usage of advanced workstations offers the possibility to discover small vessels and shunts and also gives detailed information

about associated cardiovascular defects [12-14]. But it is a concern about the radiation dose of MDCT especially in young patients. The usage of ECG attenuation techniques limits the exposure during the less informative parts of the cardiac cycle. The success of this technique depends on the usage of premedication, ECG-gating, and special technical protocols. Data processing of multidimensional images might be time consuming but sagittal, coronal and 3D images are valuable in planning the operation [8,22,23].

MRI will also demonstrate the abnormal pulmonary venous connection, but it could better depict an associated ASD. Chest radiography is often normal and secondary signs of a left-to-right shunt such as cardiomegaly, pulmonary vascular prominence, and pulmonary artery hypertension could be seen [10].

The medical treatment of PAPVC is not a routine choice for asymptomatic patients. Patients with heart failure can be managed with diuretics, cardiac glycosides, afterload reduction, and beta blockers. Arrhythmias should be appropriately treated. Percutaneous transcatheter occlusion of the anomalous pulmonary venous connection using coil was also reported. The definitive treatment for PAPVC is the surgical repair. The optimal time for intervention is the preschool age. The operative technique depends on the number and the site of the anomalous vein or veins. On certain cases either a lobectomy or an ipsilateral pneumonectomy could be performed [18,21,23]. But to prevent heart failure it is critical to perform corrective operations. Among several techniques, the Warden method or modified Warden method are usually used [26]. An anomalous vein on the left side is implanted directly into the left auricular appendage or the left atrium. A number of postoperative complications such as kinking, stenosis of the corrected pulmonary vein, obstruction, and arrhythmias are correlated with these procedures [1].

In conclusion, PAPVC is an uncommon congenital anomaly. In our case patient was 42-year-old female with no symptoms associated with PAPVC. She was present to the Clinic for completely other pathology; no connections with her anomalous veins were identified. PAPVC

was incidentally discovered during the chest computed tomography, namely pathologic vein of left upper lobe which was drained to left brachiocephalic vein was found. No accompanied atrial septal defect has been identified. Coronal, sagittal and 3D reconstructions gave us opportunity for detailed picture analysis. Conservative approach and observation in dynamics was chosen, due to no associated clinical symptoms.

Conflict of interests. Authors declare that they have no conflict of interests.

REFERENCES

1. Alsoufi B, Cai S, Van Arsdell GS, Williams WG, Caldarone CA, Coles JG. "Outcomes after surgical treatment of children with partial anomalous pulmonary venous connection". *Ann Thorac Surg.* 2007;84: 2020–6.
2. Ammash Naser M., Seward James B., Warnes A., Heidi M. Connolly, Patrick W. O'Leary, Gordon K. Danielson, Partial Anomalous Pulmonary Venous Connection: Diagnosis by Transesophageal echocardiography. *JACC* 1997; 29(6): 1351–8.
3. Babb J.D., McGlynn T.J., Pierce W.S., Kirkman P.M. Isolated partial anomalous venous connection: a congenital defect with late and serious complications. *Annals of Thoracic Surgery* 1981; 31(6): 540–543.
4. Bernstein D. "Partial anomalous pulmonary venous return." In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, editors. *Nelson textbook of pediatrics.* 18th ed. Philadelphia: Saunders; 2007;1886.
5. Boody H. Drainage of the pulmonary veins into the right side of the heart. *Archives of Pathology* 1942; 33: 221–240.
6. Cronin P., Kelly A.M., Gross B.H et al. Reliability of MDCT in characterizing pulmonary venous drainage, diameter and distance to first bifurcation. An interobserver study. *Academic Radiology* 2007; 14(4): 437–444.
7. Demos T.C., Posniak H.V., Pierce K.L., Olson M.C., Muscato M. Venous Anomalies of the Thorax. *American Journal of Roentgenology* 2004; 182(5): 1139–1150.
8. Diller G.P., Gatzoulis M.A. Pulmonary vascular disease in adults with congenital heart disease. *Circulation* 2007; 115:1039–50.
9. Dillman J.R., Yarram S.G., Hernandez R.J. Imaging of pulmonary venous developmental anomalies. *American Journal of Roentgenology* 2009; 192(5): 1272–1285.
10. Elami A., Rein A.J., Preminger T.J., Milgalter E. Tetralogy of Fallot, "Absent pulmonary valve, partial anomalous pulmonary venous return and coarctation of the aorta". *Int J Cardiol.* 995;52:203–206.
11. Haramati L.B., Moche I.E., Rivera V.T., Patel P.V., Heyneman L., McAdams H.P. et al. Computed tomography of partial anomalous pulmonary venous connection in adults. *J Comput Assist Tomogr.* 2003;27:743–9.
12. Ho M.L., Bhalla S., Bierhals A., Gutierrez F. MDCT of partial anomalous pulmonary venous return (PAPVR) in adults. *J Thorac Imaging.* 2009; 24:89–95.
13. Kasahara H., Aeba R., Tanami Y., Yozu R. Multislice computed tomography is useful for evaluating partial anomalous pulmonary venous connection. *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2010; 5(1): article 40.
14. Kim Young Nam, Cho Hwa Jin, Cho Young Kuk, Ma Jae Sook. Partial anomalous pulmonary venous connection with intact atrial septum in a child with ventricular septal defect: a case report. *Korean J Pediatr.* 2012; 55(1):24–8.
15. Kivist S., Hanninen H., Holmstrom M. Partial anomalous pulmonary venous return and atrial septal defect in adult patients detected with 128-slice multidetector computed tomography. *Journal of Cardiothoracic Surgery* 2011; 6(1): article 126.
16. Majdalany D.S., Phillips S.D., Dearani J.A., Connolly H.M., Warnes C.A. Isolated partial anomalous pulmonary venous connections in adults: Twenty-year experience. *Congenit Heart Dis.* 2010; 5:537–45.
17. Nakahira A, Yagihara T, Kagisaki K, Hagino I, Ishizaka T, Koh M, et al. "Partial anomalous pulmonary venous connection to the superior vena cava". *Ann Thorac Surg.* 2006;82:978–982.
18. Sakurai H., Kondo H., Sekiguchi A. et al. Left pneumonectomy for lung cancer after correction of contralateral partial anomalous pulmonary venous return. *Annals of Thoracic Surgery* 2005; 79(5): 1778–1780.
19. Schertler T., Wildermuth S., Teodorovic N., Mayer D., Marincek B., Boehm T. Visualization of congenital thoracic vascular anomalies using multi-detector row computed tomography and two- and three-dimensional post-processing. *European Journal of Radiology* 2007; 61(1): 97–119.
20. Sears Edmund H., Aliotta Jason M., Klinger James R. Partial anomalous pulmonary venous return presenting with adult-onset pulmonary hypertension. *Pulmonary circulation* 2012; 2(2): 250–255.
21. Shahriari A., Rodefeld M.W., Brown J.W. Caval division technique for sinus venosus atrial septal defect with partial anomalous pulmonary venous connection. *Annals of Thoracic Surgery* 2006; 81(1): 224–230.
22. Senocak F., Ozme S., Bilgic A., Ozkutlu S., Ozer S., Saraçlar M. Partial anomalous pulmonary venous return. Evaluation of 51 cases. *Jpn Heart J.* 1994; 35:43–50.
23. Takei H., Suzuki K., Asamura H., Kondo H., Tsuchiya R. Successful pulmonary resection of lung cancer in a patient with partial anomalous pulmonary venous connection: report of a case. *Surgery Today* 2002; 32(10): 899–901.
24. Tourmousoglou Christos, Kalogeropoulou Christina, Koletsis Efstratios, Charoulis Nikolaos, Prokakis Christos, Alexopoulos Panagiotis. Right Upper Lobe Partial Anomalous Pulmonary Venous Connection. *Case reports in Vascular Medicine* 2014.
25. Toyoshima M, Sato A, Fukumoto Y, Taniguchi M, Imokawa S, Takayama S, et al. Partial anomalous pulmonary venous return showing anomalous venous return to the azygos vein. *Intern Med.* 1992;31:1112–6.
26. Warden H.E., Gustafson R.A., Tarnay T.J., Neal W.A. An alternative method for repair of partial anomalous pulmonary venous connection to the superior vena cava. *Annals of Thoracic Surgery* 1984; 38 (6): 601–60.

27. Zylak C.J., Eyer W.R., Spizarny D.L., Stone C.H. Developmental lung anomalies in the adult: radiologic-pathologic correlation. Radiographics 2002; 22: 25–43.

SUMMARY

PARTIAL ANOMALOUS PULMONARY VENOUS CONNECTION WITH INTACT ATRIAL SEPTUM: A CASE REPORT

Urushadze O., Mtvradze A., Nemsadze G., Liparteliani N.

Tbilisi State Medical University, First University Clinic, Georgia

Partial anomalous pulmonary venous connection (PAPVC) is a type of left to right shunt, when one or more lung veins drain to right atrium directly or indirectly via systemic veins. PAPVC is a rare condition, discovered by 0.4 to 0.7% of cases in autopsy series. It is often associated with atrial septal defect, but can be found with other congenital anomalies such as ventricular septal defect.

Our report is about 42-year old woman who has right sided PAPVC draining into right brachiocephalic vein, which was incidental finding during pulmonary CT angiography. Patient had no symptoms associated with PAPVC and had no accompanied congenital anomaly, which is more rare condition. After consultations by surgeons, decision of conservative follow up was made, because of the fact that patient was asymptomatic.

After performed multidetector computed tomography and image analysis in coronal, sagittal and 3D reconstructions gave us superior quality images for data analysis. Once more, it confirms the role of modern high quality computed tomography in the diagnostic abilities of PAPVC.

Keywords: partial anomalous pulmonary venous connection.

РЕЗЮМЕ

ЧАСТИЧНОЕ АНОМАЛЬНОЕ СОЕДИНЕНИЕ ЛЕВОЙ ЛЕГОЧНОЙ ВЕНЫ (ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ)

Урушадзе О.П., Мтварадзе А.С., Немсадзе Г.Ш., Липартелиани Н.В.

Тбилисский государственный медицинский университет, Первая университетская клиника, Грузия

Частичное аномальное соединение легочных вен - Partial Anomalous Pulmonary Venous Connection (PAPVC) является шунтом влево направо, когда одна

или несколько легочных вен впадают в правое предсердие или системную вену. Данная аномалия является редкой патологией и встречается примерно в 0,4-0,7% при аутопсии. Часто патология ассоциирована с дефектом межпредсердной перегородки. При данной патологии наблюдаются и другие врожденные аномалии, такие как дефект межжелудочковой перегородки.

Описывается случай 42-летней больной, у которой при компьютерно-томографической ангиографии грудной полости выявлено аномальное дренирование левой легочной вены в левую плечеголовную вену. Пациентка не предъявляла каких-либо жалоб, сопутствующих врожденных аномалий не наблюдалось, что встречается крайне редко. Пациентка была проконсультирована у хирургов, и в связи с отсутствием показаний, оперативное вмешательство было отклонено.

При проведении компьютерно-томографического исследования и анализе данных коронарной, сагитальной и 3D реконструкции получено изображение высокого качества и разрешимости, что еще раз подтверждает значимость и функцию современного многослойного компьютерно-томографического исследования в диагностике частичного аномального соединения легочных вен.

რეზიუმე

ფილტვის მარცხენა ვენის ნაწილობრივი ანომალური შეერთება (შემთხვევის აღწერა)

ო. ურუშადე, ა. მთვარადე, გ. ნემსადე,
ნ. ლიპარტელიანი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, პირველი საუნივერსიტეტო კლინიკა, საქართველო

ფილტვის ვენის ნაწილობრივი ანომალური შეერთება - Partial Anomalous Pulmonary Venous Connection (PAPVC) წარმოადგენს მარცხნიდან მარჯვნივ შუნტირების ტიპს, როდესაც ერთი ან რამდენიმე ფილტვის ვენა დრენირდება მარჯვენა წინაგულში, ან სისტემურ ვენაში. მსგავსი ანომალია იშვიათი პათოლოგიაა და გვხვდება აუტოფსიების დაახლოებით 0,4-0,7%-ში; ხშირად ასოცირებულია წინაგულთაშუა ძვიდის დეფექტთან, თუმცა, შესაძლებელია მისი თანხვედრა სხვა თანდაყოლილ ანომალიებთან, მაგალითად პარკუჭთაშუა ძვიდის დეფექტთან.

წარმოდგენილია 42 წლის ქალბატონის შემთხვევა, რომელსაც აღენიშნება მარცხენამხრივი PAPVC მარცხენა მხრთა ვენაში დრენირებით, რომელიც აღმოჩენილი იქნა გულმკერდის კომპიუტერულ - ტომოგრაფიული ანგიოგრაფიის

დროს. პაციენტს არ აღენიშნებოდა პათოლოგია-სთან დაკავშირებული ჩივილები და არ ჰქონდა თანდართული რაიმე განვითარების ანომალია, რაც კიდევ უფრო მეტად იშვიათი შემთხვევაა. პაციენტი კონსულტირებულ იქნა ქირურგების მიერ და სათანადო ჩვენების არქონის გამო ოპერაციული ჩარევა არ იქნა წარმოებული.

ჩატარებული კომპიუტერულ-ტომოგრაფიული გამოკვლევებისა და მონაცემების კორონარული, საგიტალური და 3D რეკონსტრუქციების განხილვისას მიღებული იქნა მაღალი ხარისხის და გარჩევადობის გამოსახულება, რაც კიდევ ერთხელ უსვამს ხაზს თანამედროვე, მრავალშრიანი კომპიუტერული ტომოგრაფიის მნიშვნელობას PAPVC-ს დიაგნოსტიკისათვის.

MID TERM RESULTS AFTER OPEN HEART SURGERY IN HEMODIALYSIS PATIENTS AWAITING KIDNEY TRANSPLANT: DOES CARDIOVASCULAR SURGICAL INTERVENTION PRIOR TO TRANSPLANTATION PROLONG SURVIVAL?

¹Ozbek C., ¹Sever K., ²Demirhan O., ¹Mansuroglu D., ³Kurtoglu N.,
⁴Ugurlucan M., ⁵Sevmis S., ⁵Karakayali H.

¹Gaziosmanpasa Hospital, Cardiovascular Surgery Department; ²Istanbul Bilim University, Thoracic Surgery Department; ³Gaziosmanpasa Hospital, Cardiology Department;
⁴Istanbul University, Medical Faculty, Department of Cardiovascular Surgery;
⁵Gaziosmanpasa Hospital, Transplantation Department, Istanbul, Turkey

Hemodialysis patients have a special place among patients undergoing heart surgery. They need meticulous monitoring for the development of possible complications that may develop either during the operative or postoperative period. Kidney transplantation (KTp) increases the life expectancy and quality in these patients; 1 and 5 year survival rates with KTp is 90-98% and 80-90%, respectively. One year survival of the graft which can be harvested from either a live or cadaveric donor is 70-95% (from live donors) and 50-80% (for cadaveric donors). Five year graft survival is 60-90% for live donors, and 40-60% for cadaveric donors. [1]. However, availability of the organs for transplantation is still a major issue in many regions of the world.

250 kidney transplantations are performed annually at the Transplant Department at Gaziosmanpasa Hospital, in Istanbul. Our Hemodialysis Unit has 84 beds.

In about 44% of hemodialysis patients the cause of death is a cardiovascular disease, with coronary artery disease being the most common [2]. More than two thirds of hemodialysis patients have coronary artery disease, and 75% of them have symptomatic multivessel disease [3]. Patients placed on the waiting list for KTp should undergo routine detailed cardiovascular assessment. It is known that hemodialysis patients undergoing open heart surgery have high mortality and morbidity rates. Although there are no comparative studies, numerous retrospective investigations have shown that coronary artery bypass grafting (CABG) is superior to percutaneous coronary interventions (PCI), and that revascularization (CABG or PCI) is superior to

therapeutic treatment [4-7]. The rates of complications that develop during or following the procedure are higher compared to people with normal kidney functions. Radical solutions in the management of these detected disorders appear logical to avoid the morbidity that may be a result of additional interventions after KTp. Changing the decision from performing a percutaneous coronary intervention (PCI) in other patients to performing coronary artery bypass grafting (CABG) in this group of patients may be questioned with respect to its advantages. Transplantations performed in our hospital are mostly from live donors and the number of cadaveric donors are inadequate, which necessitates meticulous evaluation to determine the cardiovascular management options in this particular patient population. We therefore separated 127 patients awaiting transplantation and who were operated in our department between June 2008-December 2012 into two groups: those who underwent KTp and those who did not. The aim of this study was to compare the two groups in order to evaluate the postoperative outcomes, determine the predictors of mortality, and find the contribution of post cardiac surgery KTp to survival.

Material and methods. Local ethics committee approval was obtained. Data were accessed by bizMED3 version 3.7.3.4 hospital data management system and patient files. A total of 127 hemodialysis dependent patients who were awaiting kidney transplantation and underwent open heart surgery between June 2008 and December 2012 were identified. They were separated into two groups: those who underwent a KTp constituted the Tp+ group (n=33) and those who did not constituted the Tp- group (n=94).

All patients from received hemodialysis the day before surgery, and routine programs were applied. Intraoperative hemofiltration was performed when necessary. Cessation of the perfusion with a negative fluid balance was aimed. Postoperative hemodialysis was performed according to the needs of the patients. The patients were called for postoperative evaluations 1 week, 1, 3 and 6 months later, and every 6 months thereafter. All patients who did not come to the control visits were contacted by phone and information on their condition was recorded.

Surgical Procedure. A median sternotomy approach was chosen in all patients. Ascending aorta and right atrium (by a two stage venous cannula) or bicaval cannulation was performed. Systemic heparinization was achieved with 300 U/kg of heparin and perfusion was initiated when activated clotting time (ACT) was above 400 seconds. Moderate hypothermia (32-34°C), non-pulsatile perfusion, coated tubing sets and membrane oxygenator were used during surgery. Antegrade or optional retrograde cold blood cardioplegia was infused for myocardial protection. Patients operated off-pump were not included into the study for randomization purposes.

Definitions. Diabetes, hypertension, and smoking were determined from the patient histories. The criteria were as follows: a total cholesterol level >200 mg/dL for hyperlipidemia, a body mass index > 30kg/m² for obesity, a FEV1/FVC < % 50 for chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and more than % 50 stenosis in the peripheral arteries or the presence of a thoracic or an abdominal aortic aneurysm for peripheral vascular disease (PVD). The use of dopamin at renal dose was not accepted as inotropic support. Higher doses of dopamin or use of any other additional inotropes were recorded numerically (0,1,2,3).

Parameters. Both groups were compared with respect to **preoperative** parameters including age, sex, diabetes mellitus (DM), hypertension (HT), hyperlipidemia (HL), obesity, smoking, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), peripheral vascular disease (PVD), left ventricular ejection fraction (EF), Euroscore; **operative** parameters including cross clamp time, perfusion time, number of grafts, use of internal mammary artery (IMA), **postoperative** parameters including revision, blood and blood product transfusion, ventilation time, use of inotropic agents, length of stay in the intensive care unit and hospital, and follow up findings. Complications encountered during follow up period were recorded. Mortality predictors were determined and the survival rate was calculated.

Statistical evaluation was made with the Number Cruncher Statistical System (NCSS) 2007 Statistical Software pack (Utah, USA). In addition to descriptive statistical methods (mean, standart deviation) in the evaluation of data, independent T test was used for comparison of two groups, chi square rest was applied for comparison of qualitative data, logistic regression was performed for determining the fac-

tors affecting mortality, and Kaplan Meier and Log-rank tests were used to determin the effect of the presence of Tp on survival. The limit for significance was set at p<0.05, with a confidence interval of 95%.

Results and their discussion. Examination of preoperative basic characteristics in both groups showed that in the Tp+ group mean age, DM, obesity, presence of PVD, and Euroscores were significantly lower than the Tp- group. There were no differences between the two groups with respect to sex, HT, HL, smoking, and COPD parameters (Table1). Evaluation of operative findings showed that cross clamp and perfusion times, number of grafts and IMA use values were not significantly different (Table2). In the evaluation of postoperative findings, blood transfusion requirement and length of hospitalization were lower in the Tp+ group than in Tp-, and follow up duration was significantly higher. The use of inotropic agents were found to be significantly higher in the Tp- group. There were no significant differences with respect to revision, ventilation time, length of stay in the intensive care unit, and hospital mortality (Table 3). In the evaluation performed for the investigation of mortality predictors, analysis of preoperative data showed that mean age, obesity rates, and Euroscore values were significantly higher in deceased patients (EP) than living patients (LP). There were no significant differences with respect to sex distribution, DM, HT, HL, smoking, COPD, presence of PVD, and mean EF. Among the operative findings, there were no significant differences between the cross clamp and perfusion times, number of grafts, use of internal mammary artery (IMA). Evaluation of the postoperative data showed that revision, ventilation time, length of stay in the ICU and hospital, blood transfusion, and use of inotropic agents were significantly higher in the EP group compared to the LP group. A logistic regression analysis was made to determine the factors affecting mortality. Age, obesity, Euroscore, revision, ventilation time, length of stay in the ICU and hospital, blood transfusion, and inotropic agent use were analyzed. Revision (p=0.013), blood transfusion (p=0.017), duration of ventilation (p=0.019), and length of stay in the ICU (p=0.009) were found as predictors of mortality. In the Tp- group survival rates at 1, 2, and 3 years were 86.1%, 81.0%, and 77.5%, respectively; median survival time was 41.35±2.02 months. In the Tp+ group survival rates at 1, 2, and 3 years were 96.0%, 96.3%, and 90.4%, respectively; and median survival time was 49.64±1.59 months; these figures were significantly higher than in the Tp- group. (p=0.048) (Table 4). Complications, developed during the follow up period were analyzed. In the Tp+ group control angiography and PCI were deemed necessary and performed in 1 patient. In the Tp- group, control angiography was performed in 9 (9.57%) patients and 4 of them underwent a successful PCI in the same session. (Table 6) There was no cardiac mortality in the Tp+ group, compared to 8 deaths (8.51%) in the Tp- group. Non cardiac mortalities included 2 patients (6.06%) in Tp+ group and 10 patients (10.63%) in the Tp- group. Wound infections were detected in 14 patients, and 3 patients developed mediastinitis (Table 5).

Table 1. Preoperative Characteristics Between Two Groups

Demographics ¹	Tx(+)(n=33)	Tx(-)(n=94)	pValue
Age, years	47.82±8.81	57.73±10.07	<0,0001
Female Gender	6 (18.18%)	31 (32.98%)	
Male Gender	27 (81.82%)	63 (67.02%)	0.108
Cardiovascular risk factors			
Diabetes mellitus	10 (30.30%)	51 54.26%	0.018
Hypertension	22 (66.67%)	63 67.02%	0.970
Hyperlipidemia	13 (39.39%)	30 31.91%	0.435
Obesity ²	2 (6.06%)	21 22.34%	0.037
Smoking history	21 (63.64%)	46 48.94%	0.146
Comorbidities			
COPD	1 (3.03%)	11 11.70%	0.143
PVD	2 (6.06%)	24 25.53%	0.017
LVEF	59.58±10	54.73±10.85	0.026
Euroscor	5.64±0.74	7.21±1.79	0.0001

COPD=Chronic obstructive pulmonary disease

PVD=Peripheral vascular disease LVEF=Left ventricular ejection fraction

¹Continuous data are presented as mean ± Standard deviation

²Body mass index >30kg/m²

Table 2. Operative Characteristics Between Two Groups

Characteristics	Tx(+)(n=33)	Tx(-)(n=94)	pValue
ACC time, min	38.45±25.85	44.12±21.99	0.227
CPB time, min	66.33±38.75	75.61±32.04	0.179
Graft per patient	2.97±1.31	3.23±1.04	0.263
IMA graft use	32 100%	81 92.05%	0.100

ACC= Aortic cross-clamp, CPB= Cardiopulmonary bypass, IMA= Internal Mammary Artery

Table 3. Postoperative Characteristics Between Two Groups

Characteristics	Tx(+)(n=33)	Tx(-)(n=94)	pValue
Revision	1 (3.03%)	6 (6.38%)	0.468
Blood Transfusion, (U)	1.33±1.05	2.1±1.49	0.008
Ventilation time (h)	12.36±3.51	16.34±13.22	0.091
Inotrop Use	0.36±0.69	0.91±0.95	0.001
ICU Stay,(day)	1.91±0.98	3.45±5.75	0.130
Hospital Stay, (day)	6.55±1.46	9.04±6.79	0.039
Following Time, (months)	29.24±13.37	21.98±15.42	0.018
Hospital Mortality	0 (0.00%)	8 (8.51%)	0.083

Table 4. Univariate test results and Logistic Regression Analysis

Characteristics	Excitus	Living	p
Age	60.25±7.57	54.21±10.9	0.019
Gender: female	9 (45.00%)	28 (26.17%)	0.089
male	11 (55.00%)	79 (73.83%)	
EF	51.75±9.72	56.79±10.86	0.056
Euro Scor	7.65±1.63	6.64±1.71	0.016
ACC time (min)	43.35±29.66	42.51±21.81	0.883
CPB time (min)	72.8±39.11	73.27±33.16	0.955

DM	11 (55,00%)	50 (46.73%)	0.497
HT	12 (60.00%)	73 (68.22%)	0.473
HL	5 (25.00%)	38 (35.51%)	0.362
Obesity	7 (35.00%)	16 (14.95%)	0.033
Smoking history	9 (45,00%)	58 (54.21%)	0.449
COPD	3 (15.00%)	9 (8.41%)	0.355
PVD	7 (35.00%)	19 (17.76%)	0.079
IMA use	15 (88.24%)	98 (95.15%)	0.260
Revision	3 (15.00%)	4 (3.74%)	0.043
Grafts per patient	2.94±0.9	3.19±1.15	0.388
Ventilation time (h)	26.35±25.31	13.24±4.32	0.0001
ICU stay (day)	7.35±11.56	2.24±1.32	0.0001
Hospital stay (day)	11.65±12.1	7.79±3.73	0.007
Blood Transfusion U)	2.5±2.16	1.79±1.22	0.039
Inotrope use	1.5±1.4	0.64±0.75	0.0001

	B	P	OR	%95 OR	
				Lower	Upper
Age	-0,01	0,754	0,99	0,91	1,07
Obesity (+)	1,41	0,079	4,10	0,85	19,80
Euro Scor	-0,13	0,511	0,88	0,59	1,30
Revision(+)	3,95	0,013	5,18	2,32	11,58
Ventilation/h	-0,18	0,019	0,83	0,72	0,97
ICU/D	-0,82	0,009	0,44	0,24	0,81
Hospital stay/D	0,30	0,058	1,35	0,99	1,83
Inotrope use	-0,03	0,950	0,97	0,35	2,66
Blood transfusion	1,06	0,017	2,87	1,21	6,85
Constant	0,06	0,982	1,07		

Year	Tp (-)	Tp (+)
1.	0,861±0,037	0,960±0,039
2.	0,815±0,044	0,960±0,039
3.	0,775±0,050	0,904±0,066
Median±SE	41,35±2,02	49,64±1,59
%95 CI	37,39-45,31	46,51-52,76
LogRank:3,92 p=0,048		

Table 5. Complication and mortality on follow up period

Characteristics	Tx(+)(n=33)	Tx(-)(n=94)
MI, unstable angina	1(%3.03)	8(%8.51)
Control angiography	1(%3.03)	9(%9.57)
PCI	1(%3.03)	4(%4.25)
Cardiac death	-	8(%8.51)
Non-Cardiac death	2(%6.06)	8(%8.51)
Unknown cause	-	2(% 2.12)
Wound infection	2(%6.06)	12(%12.76)
Mediastinitis	-	3(%3.19)

Early cardiovascular disease is the leading cause of mortality in patients with chronic renal failure (CRF). In addition to the classical risk factors in CRF patients, numerous other risk factors including anemia, disorders in calcium-phosphate

metabolism, lipid metabolism disorders and elevated LDL, inflammation, oxidative stress, nitric oxide deficiency, and autonomic dysfunction are considered as significant [8] Atherosclerosis in the general population is characterized by

fibroatheromatous plaque and occlusive disease. In CRF it has been shown that intimal and medial thickening is greater, and plaque calcification is more prominent. Although acute plaque rupture is less encountered in this patient group, the rates of heart failure due to ischemia, and sudden cardiac death rates are higher than in general population [9]. The two-year survival rate of dialysis patients who have sustained an acute MI was found to be as low as 25%. The incidence of angiographically significant coronary artery disease was 25% in non-diabetic young patients on dialysis, and 85% in elderly patients with a long term history of diabetes. Compared to the normal population, death due to cardiac causes is 100 times more common in dialysis patients under 45 years of age [10,11]. The realistic permanent solution for patients with CRF is kidney transplantation; however, issue is still compromised with shortage of available organs. The waiting period complicates the cardiovascular status of the patients.

Therefore, in patients awaiting kidney transplant, the significance of a detailed investigation for cardiovascular diseases is necessary. A rapid solution of the problems necessitating treatment during the transplant waiting period is important to ensure that recipient is suitable when an organ becomes available and Tp is carried out sooner. The distribution of the cardiovascular pathologies detected in our patients who underwent surgery showed that coronary artery disease was the most common (113/127, 88%), followed by isolated valve diseases (4/127, 3%). This group is followed by those who undergo combined surgery. (Table 4) In the patient group who will undergo kidney transplant surgery, assessment of the abdominal aorta and common iliac arteries is highly significant for detection of vascular pathologies that may be encountered during anastomosis of the renal artery to the common iliac arteries. Aneurysmatic, severely calcified, stenotic or totally occluded iliac arteries may commonly be encountered. In addition to graft failure, these may lead to the complications including leg ischemia or even extremity loss. A CT angiography is recommended in patients who have calcification or stenosis on X-rays or Doppler ultrasonography. Patients with severe calcification may even be excluded from the waiting list. In this patient group, implantation of the kidney to a vascular graft is possible after an aortobifemoral or aortofemoral bypass [12,13].

The treatment options in hemodialysis patients diagnosed with coronary artery disease are medicinal treatment, percutaneous coronary interventions (PCI), and CABG; however, the number of randomized comparative studies on these treatment options is insufficient for comparative analysis. The most appropriate treatment method remains controversial [14] Although there are no comparative studies, numerous retrospective studies showed that CABG was superior to PCI, and revascularization (CABG or PCI) was superior to medicinal treatment [4-7]. Similarly, Hemmelgarn et al. showed that the survival after CABG in hemodialysis patients was superior when compared to all others [15]. The most important question that must be answered regarding

the approach in patients who are candidates for a kidney transplantation: to which extent will the patients receiving immune suppression after Tp be exposed to new invasive procedures? Infections that may develop in access points and graft failures due to contrast substances are among the major problems. A good choice must be made on the treatment method that lengthens survival and decreases the need for additional procedures. In our study, control angiography and PCI was performed in only one patient (3.03%) in the Tp+ group. In the Tp- group 9 (9.57%) patients underwent a control angiography and a successful PCI was performed in the same session in 4 (4.25%) of them (Table 5). These rates are fairly successful in an approximately 30-month follow up and a high-risk group of patients. Evaluation of both patient groups revealed that the Tp- group was older, the rates of DM, obesity and PVD were significantly higher, EF values were lower in risk evaluation, and Euroscore values were higher (Table 1). As a result, the Tp+ group comprises of younger patients, with less comorbidities and risk factors. We believe that the relatively greater number of cross transplantations (live donors), and prioritization of younger patients in cross transplantations have an effect on the demographic structure and subsequently on lower risk factors in these patients. In older patients and those with comorbidities the preference should be placing them on a waiting list for an organ. In the Tp- group, length of hospital stay, number of transfusions, and the use of inotropic agents were significantly greater, which is believed to be related to the general condition and risk factors of these patients who did not undergo the cardiovascular procedure. Although there was statistically no significant difference with respect to hospital mortalities, eight deaths occurred in the hospital (8.51%) in the Tp- group, and no deaths in the Tp+ group (Table 3). Among causes of mortality cardiac causes are the most common, followed by neurologic and infectious (Table 6). Based on the analysis we made to determine the factors affecting mortality, the mean age, Euroscore values, obesity, revision, duration of ventilation, length of stay in the ICU and the hospital, blood transfusion, and use of inotropic agents in deceased patients were significantly higher in univariate tests. The logistic regression analysis showed that revision, duration of ventilation, length of stay in the ICU, and blood transfusion were determined as the mortality predictors (Table 4). It is clear that all four of these factors are closely related to each other. However, interestingly none of the factors were found to be significantly correlated with transplantation status of the patients. Although it may not be the only cause, a patient undergoing a revision may be predicted to require more blood transfusion, with a longer period of intubation and length of stay in the ICU. Numerous hematologic complications are observed in chronic renal failure. Clinically the biggest problem arises from anemia, thrombocytopenia, and thrombocyte dysfunction. The real causes of anemia are hypoproliferative conditions, with erythropoietin deficiency being the principal one, and hemolysis, iron and folic acid deficiency as the other

significant causes. A decrease in the levels of Factors V, VII, IX, and X, thrombocytopenia, and thrombocyte dysfunction are responsible for hemostasis problems seen in dialysis patients. Drug related (clopidogrel, nicotinamid, quinin, etc.), catheter related hemolysis, systemic diseases (sepsis, chronic liver disease, ITP, TTP, vasculitis) and hemodilution are common causes of thrombocytopenia in dialysis patients [16]. Therefore thorough hemostasis must be performed with patience in dialysis patients undergoing heart surgery. Other operative difficulties we observed in dialysis patients are pleural and pericardial adhesions, and calcified aorta. They were observed frequently, either separately or in combination. These conditions, observed in 14.17% (18/127) of the patients prolongs the length of the operation and perfusion. In patients requiring valve replacement, discussion mostly focuses on the selection of bioprosthesis and mechanical valve. Bioprostheses have the advantage of avoiding hemorrhagic complications due to anticoagulant treatment, their disadvantages include calcium deposit in the prosthetic valve due to distorted calcium metabolism, causing early structural valve dysfunction. In a review, Misawa emphasized the importance of life expectancy in valve selection. The author stated that in Japan 10 and 15 year survival rates in patients receiving dialysis were 35-42% and 23-31%, respectively. These rates were higher than in the United States, reason for which could be a factor in the preference of mechanical valves. On the other hand, 5 year life expectancy drops to 5.3-6.2% in the sixth decade [17]. Therefore the selection of the valve should be made with a consideration of the patient's age

and life expectancy. The risk of bacterial endocarditis due to repeated intravenous procedures is another important factor that needs consideration in dialysis patients. In our study bioprostheses were used in 2 of 5 patients who underwent valve replacement. One patient in the Tp+ group who underwent a CABG+MVR (mechanical), and two patients in the Tp- group who underwent MVR (bioprosthesis) and AVR+Mitral ring are still under follow up without any problems. In the Tp- group, two patients who underwent MVR (mechanical) and AVR+MVR (mechanical) died at the hospital (Table 7). Assessment of survival rates showed that in the Tp- group they were 86.1%, 81.0%, and 77.5% at 1, 2, and 3 years, respectively; and median survival time was 41.35±2.02 months. In the Tp+ group survival rates at 1, 2, and 3 years were 96.0%, 96.3%, and 90.4%, respectively; and median survival time was 49.64±1.59 months (Fig.). In a study by Herzog et al., among 2661 patients who underwent a KTp, 1100 underwent a CABG after transplantation, and two year survival rates in these patients were 82.7±2.8% and 74.4±5.4% in the groups in which the internal mammary artery was used and not used, respectively. The same study has shown that the best long term survival results were seen in the group who received CABG [7]. In our study 3 year survival rate in the Tp+ group is 90.4%. Prior to kidney transplantation the detection of cardiovascular problems by a careful assessment and treatment with appropriate methods may contribute to a longer survival by decreasing cardiovascular system problems that may be seen after transplantation.

Table 6. Causes of Mortality

Causes of Mortality	Tx+(n=33)	Tx-(n=94)
Cardiac	-	8
Mesenteric ischemia	-	1
Neurological	-	3
Rejection	1	-
Mediastinitis	-	2
Lung infection	1	2
Unknown cause	-	2

Table 7. Operations

Operations	Tx+(n=33)	Tx-(n=94)
CABG	31	82
CABG+Mitral Valve Repair	1	1
CABG+MVR	1	-
ASD	1	-
CABG+LV Aneurysmectomy	-	2
Mixoma	-	1
CABG+Carotid endarterectomy	-	2
MVR	-	1(bioprosthesis)
AVR+Mitral Ring	-	1(bioprosthesis)
MVR	-	1
AVR+ MVR	-	1
Endocarditis, exploration	-	1

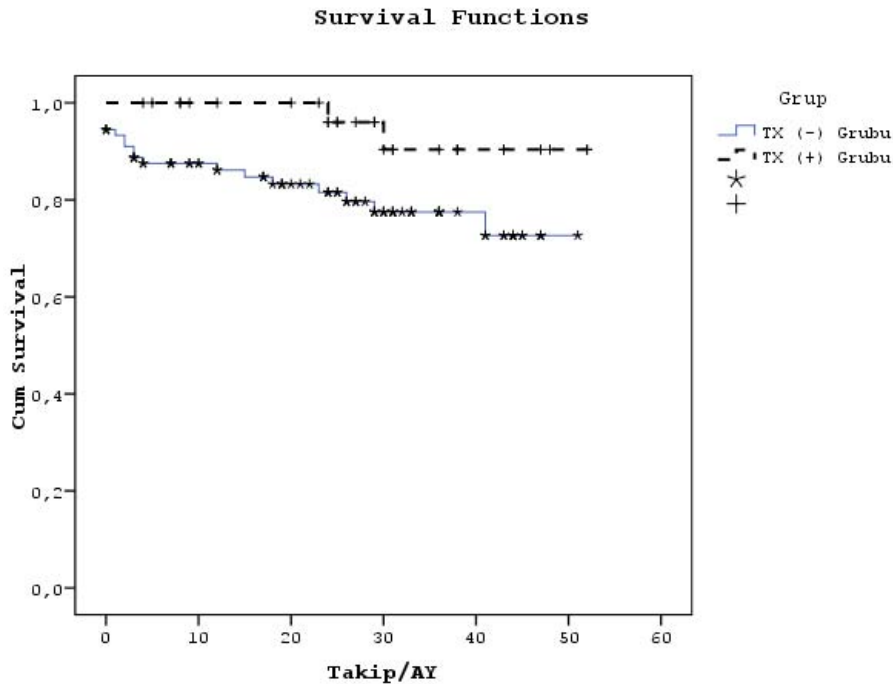


Fig. Kaplan-Meier curve for mid-term mortality

Limitations

The major limitation of the study is nonequivalent cohort in both groups. This may seem as if there is a selection bias; however, the study comprised of all subjects with chronic renal failure followed at our institution who underwent cardiac surgical procedures nevertheless being transplanted or not transplanted. The aim of the study was simply compare the results of both groups. Although the transplanted group seemed to have better preoperative status, we could not identify a significant correlation between transplantation and better status as well as post-operative mortality and morbidity issues. Additionally, the reason for not receiving kidney transplant was related to the availability of the organs, and not to age or any other comorbidity factors of the patients and additional transplantations were performed when suitable organs were found.

Conclusion

Among patients awaiting transplantation and who underwent heart surgery in our department, this study evaluated two groups of patients, those who underwent a KTp and those who did not. Mean life expectancy and mean survival time after heart surgery were significantly greater in patients in the Tp+ group. Although the number of patients were very limited, and the patients who underwent transplantation formed relatively a selected group, a 90.4% 3 year survival rate, and a median survival of $49.64 \pm 1.59\%$ is noteworthy. When it is considered that 5 year survival after kidney transplant is around 75-80%, we believe that a radical solution of the cardiovascular problems prior to Tp will have a significant contribution to post-transplantation survival.

REFERENCES

1. Glasscock RJ, Cecka JM. Long-term outcome of renal transplantation. Textbook of Nephrology. Massry SG, Glasscock RJ (eds). Williams and Wilkins: Baltimore; 1996: 1718-27.
2. UNITED STATES RENAL DISEASE SYSTEM: USRDS 1997 Annual Data Report. Bethesda, National Institute of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease 1997; 91-101.
3. Joki N, Hase H, Nakamura R, Yamaguchi T. Onset of coronary artery disease prior to initiation of haemodialysis in patients with end-stage renal disease. Nephrol Dial Transplant 1997;12:718-23.
4. Rinehart AL, Herzog CA, Collins AJ, Flack JM, Ma JZ, Opsahl JA. A comparison of coronary angioplasty and coronary artery bypass grafting outcomes in chronic dialysis patients. Am J Kidney Dis 1995; 25(2):281-90.
5. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Long-term outcome of dialysis patient in the United States with coronary revascularization procedures. Kidney Int 1999; 56(1):324-32.
6. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Comparative survival of dialysis patient in the United States after coronary angioplasty, coronary artery stenting and coronary artery bypass surgery and impact of diabetes. Circulation 2002; 106(17):2207-11.
7. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Long-term outcome of renal transplant recipients in the United States after coronary revascularization procedures. Circulation 2004; 109(23):2866-71.
8. Edwards NC, Steeds RP, Ferro CJ, Townend JN. The treatment of coronary artery disease in patients with chronic kidney disease. QJ Med 2006;99(11):723-36.

9. Jardine AG, McLaughlin K. Cardiovascular complications of renal disease. *Heart* 2001;86:459-66.
10. Manske CL, Wang Y, Rector T. Coronary revascularization in insulin-dependent diabetic patients with chronic renal failure. *Lancet* 1992;340:998-1002.
11. McCullough PA. Evaluation and treatment of coronary artery disease in patients with end-stage renal disease. *Kidney Int Suppl* 2005;95:51-8.
12. Davins M, Llagostera S, Jimenez R, Rosales A, Romero JM, Diaz JM. Aortofemoral bypass to bridge end-stage renal disease patients with severe iliac calcification to kidney transplantation. *Vascular* 2009; 17(5):269-72.
13. Aitken E, Ramjuk S, Buist L, Kingsmore D. The prognostic significance of iliac vessel calcification in renal transplantation. *Transplant Proc* 2012; 44(10):2925-31.
14. Hillis LD, Peter K. Smith, Jeffrey L. Anderson, John, et al. 2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Writing Committee Members. *Circulation* 2011;124:e675.
15. Hemmelgarn BR, Southern D, Culleton BF, et al. Survival after coronary revascularization among patients with kidney disease. *Circulation* 2004;110:1890-5.
16. Daugirdas JT, Bernardo AA. Hemodialysis effect on platelet count and function and hemodialysis-associated thrombocytopenia. *Kidney Int* 2012; 82(2):147-57.
17. Misawa Y. Heart valve replacement for patients with end-stage renal disease in Japan. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2010; 16(1):4-8.

SUMMARY

MID TERM RESULTS AFTER OPEN HEART SURGERY IN HEMODIALYSIS PATIENTS AWAITING KIDNEY TRANSPLANT: DOES CARDIOVASCULAR SURGICAL INTERVENTION PRIOR TO TRANSPLANTATION PROLONG SURVIVAL?

¹Ozbek C., ¹Sever K., ²Demirhan O.,
¹Mansuroglu D., ³Kurtoglu N., ⁴Ugurlican M.,
⁵Sevmis S., ⁵Karakayali H.

¹Gaziosmanpasa Hospital, Cardiovascular Surgery Department; ²Istanbul Bilim University, Thoracic Surgery Department; ³Gaziosmanpasa Hospital, Cardiology Department; ⁴Istanbul University, Medical Faculty, Department of Cardiovascular Surgery; ⁵Gaziosmanpasa Hospital, Transplantation Department, Istanbul, Turkey

The aim of this study was to compare the mid and long term postoperative outcomes between the hemodialysis-dependent patients awaiting kidney transplant who underwent open heart surgery in our department during the last five years, and those who did not receive a renal transplant, to determine the predictors of mortality, and assess the possible contribution of post heart surgery kidney

transplantation to survival. The patients were separated into two groups: those who underwent a transplantation after open heart surgery were included in the Tp+ group, and those who did not in the Tp- group.

Between June 2008 and December 2012, 127 dialysis dependent patients awaiting kidney transplant and who underwent open heart surgery were separated into two groups. Those who underwent transplantation after open heart surgery were determined as Tp+ (n=33), and those who did not as Tp- (n=94). Both groups were compared with respect to preoperative parameters including age, sex, diabetes mellitus (DM), hypertension (HT), hyperlipidemia (HL), obesity, smoking, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), peripheral vascular disease (PVD), left ventricle ejection fraction (EF), Euroscore; operative parameters including cross clamp time, perfusion time, number of grafts, use of internal mammary artery (IMA); postoperative parameters including revision, blood transfusion, ventilation time, use of inotropic agents, length of stay in the intensive care unit and hospital, and follow up findings. Problems encountered during follow up were recorded. Predictors of mortality were determined and the survival was calculated.

Among the preoperative parameters, when compared with the Tp- group, the Tp+ group had significantly lower values in mean age, presence of DM, obesity, PVD, and Euroscore levels, and higher EF values. Assessment of postoperative values showed that blood transfusion requirement and length of hospital stay were significantly lower in the Tp+ group compared to the Tp- group, whereas the length of follow up was significantly higher in the Tp+ group. The use of inotropic agents was significantly higher in the Tp- group. A logistic regression analysis was made to determine the factors affecting mortality. Revision (p=0.013), blood transfusion (p=0.017), ventilation time (p=0.019), and length of stay in the intensive care unit (p=0.009) were found as predictors of mortality. Survival rates at years 1, 2 and 3 were 86.1%, 81%, 77.5% in the Tp- group, and 96.0%, 96.3%, 90.4% in the Tp+ group. Median survival rate was 41.35±2.02 in the Tp- group, and 49.64±1.59 in the Tp+ group which was significantly higher compared to the Tp- group (p=0.048).

Chronic renal failure is among the perioperative risk factors for patients undergoing open heart surgery. Transplantation is still an important health issue due to insufficiency of available transplant organs. Patients with chronic renal failure are well known to have higher risks for coronary artery disease. A radical solution of the cardiovascular system problems prior to kidney transplantation seems to have a significant contribution to the post transplant survival.

Keywords: kidney transplantation, open heart surgery, hemodialysis.

РЕЗЮМЕ

БЛИЖНИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ У ПАЦИЕНТОВ, ПОДВЕРГШИХСЯ ОПЕРАЦИИ НА ОТКРЫТОМ СЕРДЦЕ И ОЖИДАЮЩИХ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ПОЧКИ: ВЛИЯНИЕ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ДО ПЕРЕСАДКИ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТА

¹Озбек К.Д., ¹Север К., ²Демирхан О., ¹Мансуроглу Д.,
³Куртоглу Н., ⁴Угурлуджан М., ⁵Севмис С., ⁵Каракаяли Х.

¹Больница Газиосманпаша, отдел сердечно-сосудистой хирургии; ²Стамбульский университет Билим, отделение торакальной хирургии; ³Больница Газиосманпаша, отдел кардиологии;

⁴Стамбульский университет, медицинский факультет;

⁵Больница Газиосманпаша, отдел трансплантации, Стамбул, Турция

Хроническая почечная недостаточность является одним из факторов риска среди пациентов, перенесших операцию на открытом сердце. Трансплантация почки по-прежнему является значимой медицинской проблемой в виду недостаточности органов-трансплантантов. Пациенты с хронической почечной недостаточностью подвержены риску наличия или возникновения ишемической болезни сердца.

Целью данного исследования явилось сравнение ближних и долгосрочных послеоперационных результатов среди гемодиализ-зависимых пациентов, ожидающих пересадку почки, которые подверглись хирургическому лечению на открытом сердце в период с июня 2008 года по декабрь 2012 года; определение прогностических факторов смертности, а также оценка вклада трансплантации почки, после кардиохирургической операции, на выживаемость пациентов.

127 диализ-зависимых пациентов были разделены на две группы: подвергшиеся трансплантации почки после операции на открытом сердце были включены в группу Tr+ (n=33); пациенты, которым не была произведена трансплантация почки составили группу Tr- (n=94).

Проведён сравнительный анализ следующих предоперационных параметров в обеих группах: возраст, пол, наличие сахарного диабета (DM), гипертонии (HT), гиперлипедимии (HL), ожирения, курения, хронической обструктивной болезни легких (COPD), заболевания периферических сосудов (PVD), фракция выброса левого желудочка (EF), EuroScore; внутриоперационных параметров, включая длительность наложения кросс-зажимов, длительность перфузии, количество шунтов, с использованием внутренней грудной артерии (ИМА); послеоперационных параметров, включая хирургическую ревизию, количество

перелитой крови, длительность нахождения на аппарате искусственной вентиляции, использование инотропных агентов, продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии и последующее наблюдение состояния после выписки. Определены прогностические факторы и рассчитан коэффициент выживаемости.

Сравнительный анализ показал, что предоперационные параметры в группе Tr+ - средний возраст, наличие DM, ожирение, PVD и уровень EuroScore значительно ниже, чем в группе Tr-, а показатель EF значительно выше. Оценка послеоперационных параметров показала, что необходимость переливания крови и длительность пребывания в стационаре были достоверно ниже в группе Tr+ по сравнению с группой Tr-.

Применение инотропных препаратов было значительно выше в группе Tr-. Для определения факторов, влияющих на смертность, проведен логистический регрессионный анализ. Хирургическая ревизия (p=0,013), переливание крови (p=0,017), продолжительность нахождения на искусственной вентиляции (p=0,019) и продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии (p=0,009) были определены как прогностические факторы смертности.

Коэффициент выживаемости в периоды 1, 2 и 3 года составил 86,1%, 81,0%, 77,5% в группе Tr- и 96,0%, 96,3%, 90,4% - в группе Tr+, соответственно. Средний показатель выживаемости в группе Tr+ был значительно выше по сравнению с группой Tr- (p=0,048).

В частых случаях, радикальное лечение проблем сердечно-сосудистой системы до трансплантации почки, является значимым фактором, влияющим на выживаемость пациента после пересадки.

რეზიუმე

ღია გულზე ოპერაცია გადატანილი და თირკმლის ტრანსპლანტაციის მომლოდინე პაციენტების მოკლევადიანი შედეგები: ტრანსპლანტაციამდე კარდიოქირურგიული მკურნალობის გავლენა პაციენტების გადარჩენის მაჩვენებელზე

¹კ. ოზბეკი, ¹კ. სევერი, ²ო. დემირხანი, ¹დ. მანსუროვლუ, ³ნ. კურტოვლუ, ⁴მ. უგურლუჯან, ⁵ს. სევემისი, ⁵ხ. კარაკაიალი

¹გაზიოსმანფაშას საავადმყოფო, გულ-სისხლძარღვთა ქირურგიის განყოფილება; ²სტამბულის უნივერსიტეტი ბილიმი, თორაკალური ქირურგიის განყოფილება; ³გაზიოსმანფაშას საავადმყოფო, კარდიოლოგიის განყოფილება; ⁴სტამბულის უნივერსიტეტი, სამედიცინო ფაკულტეტი; ⁵გაზიოსმანფაშას საავადმყოფო, ტრანსპლანტაციის განყოფილება, სტამბული, თურქეთი

თირკმლის ქრონიკული უკმარისობა ღია გულზე ოპერაცია გადატანილი პაციენტებისათვის ერთ-ერთი რისკ-ფაქტორია. თირკმლის ტრანსპლანტაცია, ორგანო-ტრანსპლანტაციის სიმციროს გამო, კვლავაც მნიშვნელოვან სამედიცინო პრობლემას წარმოადგენს. პაციენტები თირკმლის ქრონიკული უკმარისობით გულის იშემიური დაავადების არსებობის ან განვითარების რისკის ქვეშ იმყოფებიან.

კვლევის მიზანს შეადგენდა მოკლე- და გრძელვადიანი ოპერაციის შემდგომი შედეგების შედარება ჰემოდიალიზ-დამოკიდებულ პაციენტებში, რომელნიც ელიან თირკმლის გადანერგვას და დაექვემდებარენ ღია გულზე ოპერაციას პერიოდში 2008 წლის ივნისიდან 2012 წლის დეკემბრამდე. ასევე, სიკვდილობის პროგნოზული ფაქტორების და თირკმლის გადანერგვის როლის განსაზღვრა პაციენტების გადარჩენაზე კარდიოქირურგიული ოპერაციის შემდგომ.

ღიალიზ-დამოკიდებული 127 პაციენტი გაიყო ორ ჯგუფად: ღია გულზე ოპერაცია გადატანილი და თირკმელგადანერგილი პაციენტები გაერთიანდა ჯგუფში Tp+ (n=33); პაციენტებმა, რომელთაც თირკმლის ტრანსპლანტაცია არ ჩატარებია შეადგინა ჯგუფი Tp- (n=94).

ჩატარდა შემდეგი წინასაოპერაციო პარამეტრების შედარებითი ანალიზი: ასაკი, სქესი, შაქრიანი დიაბეტის, ჰიპერტონიის, ჰიპერლიპიდემიის, სიმსუქნის, ფილტვების ქრონიკული ობსტრუქციული

დაავადების, პერიფერიული სისხლძარღვების დაავადების არსებობა, თამბაქოს მოხმარება, მარცხენა პარკუჭის განდევნის ფრაქცია, EuroScore-ის დონე, შიდაოპერაციული პარამეტრები – ჯვარედინი მომჭერების დადების ხანგრძლივობის ვადის, პერფუზიის ხანგრძლივობის, გულმკერდის შიგნითა არტერიის გამოყენებით შუნტების რაოდენობის ჩათვლით; ასევე, ოპერაციის შემდგომი პარამეტრები – ქირურგიული რევიზიის, გადასხმული სისხლის მოცულობის, ხელოვნური ვენტილაციის აპარატზე ყოფნის დროის, ინოტროპული აგენტების გამოყენების, ინტენსიური თერაპიის განყოფილებაში ყოფნის და კლინიკიდან გაწერის შემდგომ დაკვირვების ჩათვლით. განსაზღვრულია პროგნოზული ფაქტორები და გამოთვლილია გადარჩენის კოეფიციენტი.

შედარებითმა ანალიზმა აჩვენა, რომ წინასაოპერაციო პარამეტრები - საშუალო ასაკი, შაქრიანი დიაბეტის არსებობა, სიმსუქნე, პერიფერიული სისხლძარღვების დაავადება და EuroScore-ის დონე - ჯგუფში Tp+ მნიშვნელოვნად დაბალია, ვიდრე ჯგუფში Tp-, ხოლო მარცხენა პარკუჭის განდევნის ფრაქცია მნიშვნელოვნად მეტია. ოპერაციის შემდგომი პარამეტრების შეფასებამ გამოავლინა, რომ სისხლის გადასხმის აუცილებლობა და სტაციონარში ყოფნის ხანგრძლივობა სარწმუნოდ ნაკლებია ჯგუფში Tp+, ჯგუფ Tp-თან შედარებით.

ინოტროპული პრეპარატების გამოყენება მნიშვნელოვნად მეტია ჯგუფში Tp-. სიკვდილობაზე მოქმედი ფაქტორების განსაზღვრის მიზნით ჩატარდა ლოგისტიკური რეგრესიული ანალიზი. ქირურგიული რევიზია (p=0,013), სისხლის გადასხმა (p=0,017), ხელოვნური ვენტილაციის აპარატზე ყოფნის (p=0,019) და ინტენსიური თერაპიის განყოფილებაში ყოფნის დროის ხანგრძლივობა (p=0,009) განისაზღვრა, როგორც სიკვდილობის პროგნოზული ფაქტორები.

გადარჩენის კოეფიციენტმა 1, 2 და 3 წლის პერიოდში ჯგუფში Tp+ შეადგინა, შესაბამისად, 86,1%, 81,0%, 77,5%, ხოლო ჯგუფში Tp- - 96,0%, 96,3%, 90,4%. გადარჩენის საშუალო მაჩვენებელი ჯგუფში Tp+ მნიშვნელოვნად მაღალია, ჯგუფ Tp-თან შედარებით (p=0,048).

ხშირ შემთხვევებში თირკმლის ტრანსპლანტაციამდე გულ-სისხლძარღვთა სისტემის პრობლემების რადიკალური მკურნალობა წარმოადგენს გადანერგვის შემდგომ პაციენტის გადარჩენაზე მოქმედ მნიშვნელოვან ფაქტორს.

СИМПТОМАТИЧЕСКИЙ ГИПЕРТРОФИЧЕСКИЙ ГИНГИВИТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Шинкевич В.И., Удальцова К.А., Писаренко Е.А., Коломиец С.В., Хмиль Т.А.

Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», кафедра последипломного образования врачей-стоматологов, Полтава, Украина

Хронический генерализованный пародонтит (ХГП) является одним из наиболее распространенных хронических воспалительных заболеваний. Зубная биопленка является одним из этиологических факторов развития большинства форм этого заболевания. Общепринято, что иммунный и воспалительный ответы на компоненты биопленки манифестируются симптомами болезней пародонта. На последствия такого взаимодействия могут влиять врожденные и приобретенные факторы риска. Системные состояния и расстройства при пародонтите считаются скорее вторичными этиологическими факторами, модифицирующими течение ГП, нежели первичной этиологией [3,8].

Некоторые авторы [8] рассматривают гингивиты как самостоятельные заболевания или симптоматическое явление при пародонтите и глубже классифицируют морфологически. ВОЗ и Американская академия пародонтологии рассматривают систематику заболеваний пародонта как поражение десны в виде двух широких категорий: индуцированных зубной бляшкой и индуцированных не зубной бляшкой. Развитие первой категории гингивитов, кроме зубной бляшки, может быть вызвано местными предрасполагающими условиями и протекать под влиянием дополнительных системных факторов.

Гингивит часто характеризуют как воспаление десны без нарушения зубо-десневого эпителиального прикрепления, однако он может протекать также на фоне снижения этого прикрепления [8]. Симптоматический гингивит, в т.ч. и гипертрофический, сопровождается пародонтит.

Под клиническими особенностями хронического генерализованного пародонтита, в отличие от агрессивных форм, подразумеваются: объем деструкции соответствует локальным факторам, имеется поддесневой камень; пародонтит связан с определенным микробным профилем; медленная или умеренная скорость прогрессирования, с возможными периодами ускорения; классифицируется по степени тяжести и распространения; может сочетаться с локальными предрасполагающими факторами (относительно зубов или ятрогенных факторов), находиться под влиянием и/или сочетаться с системными заболеваниями (диабет, ВИЧ) и модифицироваться под воздействием других факторов (стресс, курение).

Основными клиническими признаками гипертрофического гингивита являются увеличение размеров межзубных сосочков, десневого края, их деформация, нарушение рельефа поверхности десны, образование десневого кармана, сопровождающееся отеком, гиперемией, усилением кровоточивости, болезненностью, дискомфортом. Условно считается самостоятельным заболеванием у детей, подростков и в молодом возрасте.

Рентгенологические особенности ГП – преимущественно вертикальная и интерпроксимальная резорбция костной ткани альвеолярного отростка с пришеечным расширением периодонтальных щелей и остеопорозом губчатого вещества межальвеолярных перегородок; изменения в кости охватывают 30% и более зубов.

При самостоятельном гипертрофическом гингивите может наблюдаться ослабление контраста компактного вещества верхушек межальвеолярных перегородок и остеопороз губчатого вещества межальвеолярных перегородок.

Диагностика ГП проводится на основе истории болезни, клинических особенностей, рентгенологических и, при необходимости, микробиологических исследований. Объем зубных отложений соответствует деструкции тканей пародонта, которая происходит медленно.

Дифференциальную диагностику ГП проводят с локализованным и агрессивными формами пародонтита и пародонтальным синдромом. Самостоятельный гипертрофический гингивит дифференцируют с симптоматическим, при котором процесс сопровождается образованием пародонтальных карманов и соответствующей интерпроксимальной убылью костной ткани. Анализируют известные факторы, вызывающие гипертрофию десны: медикаменты, гормоны. Фиброзную форму гипертрофического гингивита дифференцируют с фиброматозом десны, при котором утолщается и ее альвеолярный отдел.

В статье описывается клинический случай диагностики и вариант лечения и контроля ХГП, сопровождающегося гипертрофическим гингивитом. В заключении обобщены имеющиеся мероприятия протокольного лечения ГП, которые могут служить ориентиром до

установления более четких принципов менеджмента данного заболевания.

Материал и методы. *Клинический случай.* В клинику обратилась пациентка 23 лет с жалобами на необычный вид и деформацию края десны, резкое увеличение десневых межзубных сосочков, их кровоточивость и болезненность, затрудняющих чистку зубов; неприятный запах изо рта. Считает себя больной 2 года. Проходила несколько курсов лечения: эффект проявлялся в уменьшении кровоточивости и болезненности десны, однако не удовлетворял эстетическим требованиям. Из сопутствующих заболеваний отмечает гастрит, которым болеет около 2 лет; в данный момент жалуется на субъективное ухудшение, к гастроэнтерологу не обращалась. Пациентка не курит, не принимает никаких медикаментов или БАД последние 3 месяца, не беременна, имеет регулярный менструальный цикл. Работает учительницей.

При экстраоральном обследовании выявлены слегка увеличенные, болезненные подчелюстные лимфоузлы. Видимые кожные и слизистые покровы и красная кайма губ - без изменений.

Пациентка имеет все зубы – 28. Состояние гигиены полости рта неудовлетворительное, на что указывает гигиенический индекс (ГИ) Федорова-Володкиной – 3,5 баллов. ГИ Грин-Вермильона – 2 балла. Индекс интенсивности кариеса «кариес+пломба+удален» (КПУ) – 6. Заметны обильные мягкие и минерализованные зубные отложения. Зубной камень локализуется преимущественно в области резцов нижней челюсти с язычной поверхности. Межзубные контакты плотные. Наблюдаются сужение зубных дуг, вестибулярное положение 13 зуба, скученность зубов во фронтальных участках верхней и нижней челюстей легкой степени; соотношения челюстей нейтральное. Патологической подвижности зубов не наблюдается.

При обследовании десны выявлены увеличение, отек и яркая гиперемия межзубных сосочков и маргинального края, особенно во фронтальном участке верхней челюсти, где сосочки достигали 1/3 длины коронок. Кровоточивость десны во фронтальных участках - 3 балла по Мюллерману. Общий индекс кровоточивости - 2,3 балла. Другие отделы слизистой оболочки рта без изменений. Слюноотделение нормальное.

Пациентка направлена на лечение с предварительным диагнозом «хронический генерализованный пародонтит» и ортопанорамой 6-месячной давности, на которой установлена деструкция межкорневых перегородок до 1/3 их длины в области фронтальных зубов обеих челюстей.

На основе данных анамнеза, клинического и рентгенологического обследований установлен клинический диагноз «обострение хронического генерализованного пародонтита I степени тяжести. Гипертрофический гингивит, гранулирующая форма» по классификации Данилевского М.Ф. [цит. по 1]. Диагноз в соответствии с МКБ-10: K05.3 Chronic periodontitis complex; согласно классификации Американской академии периодонтологии [цит. по 8] - хронический генерализованный пародонтит. Выделены сопутствующие предрасполагающие факторы: скученность зубов во фронтальном участке верхней и нижней челюстей; ведущий фактор – хроническое заболевание желудочно-кишечного тракта. Причиной гипертрофии десны предположен дисбаланс половых гормонов; рекомендована консультация гинеколога-эндокринолога, которой пациентка пренебрегла.

Пациентке проведены УЗ-скейлинг и полировка в сопровождении ротовых ванночек «Листерин». Назначен курс местных аппликаций «Метрогил Дента» на 10-14 дней 2 раза в день после гигиены полости рта. Проведен инструктаж по гигиене, выбрана зубная паста «Splat Зеленый чай». Продемонстрирована техника чистки зубов Чартерса. Рекомендации: ограничить употребление рафинированных углеводов, полноценная белковая диета с высоким содержанием овощей, фруктов и молочнокислых продуктов. Следующий визит – спустя 7 дней для оценки эффекта местного лечения. Данные общего анализа крови, мочи и уровня глюкозы клинически значимых отклонений не выявили. В результате консультации гастроэнтеролога установлен диагноз гастрита, назначено соответствующее лечение (гастрит может модифицировать воспалительные заболевания пародонта).

Результаты и их обсуждение. Спустя 7 дней после начала лечения, состояние десны несколько улучшилось: отек и объем десневых сосочков уменьшился, они приобрели синюшный застойный цвет, вместо яркой гиперемии, уменьшилась кровоточивость, однако косметический дефект и явления гипертрофии остались (рис. 1). В этот визит пациентке назначена системная антибиотикотерапия азитромицином - 500 мг 1 раз в день, в течение 7 дней.

Спустя 5 дней пациентка обратилась с жалобами на образование темного налета на зубах, который не счищался при обычной чистке, однако отметила значительный положительный эффект со стороны десны - исчезновение гипертрофии (рис. 2,3).

ГИ Федорова-Володкиной составил 3,3 балла; темный зубной налет идентифицирован как налет Пристли, вследствие изменения профиля местной микрофлоры

под влиянием антибиотикотерапии. Глубина ПК составляла до 3 мм, зубной камень, рецессия десны, кровоточивость - отсутствуют; папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА) - 28%. Черный налет или налет Пристли описан как темная полоса или прерывистая крапчатость в пришеечной трети зуба. Хотя его этиология является предметом дискуссий, большинство авторов подтверждают корреляцию между наличием этого налета и низким уровнем кариеса. Микрофлора, доминирующая в зубных отложениях этого типа - *Actinomyces spp.* имеет низкий кариесогенный

потенциал. Предположительно, железо, медь и соединения серы обуславливают темный цвет этого налета. У пациентов с черным налетом, слюна имеет высокую концентрацию кальция и буферную емкость [18].

На основе данных клинического обследования, в данный визит установлен диагноз «хронический генерализованный пародонтит I степени тяжести, ремиссия». Лечение азитромицином продлено на 3 месяца в субкилинговых дозах (500 мг - 1 раз в неделю - 3 месяца) с целью приостановления костной



Рис. 1. Спустя 7 дней после начала использования «Метрогил Дента»



Рис. 2. Клиническая картина через неделю лечения азитромицином

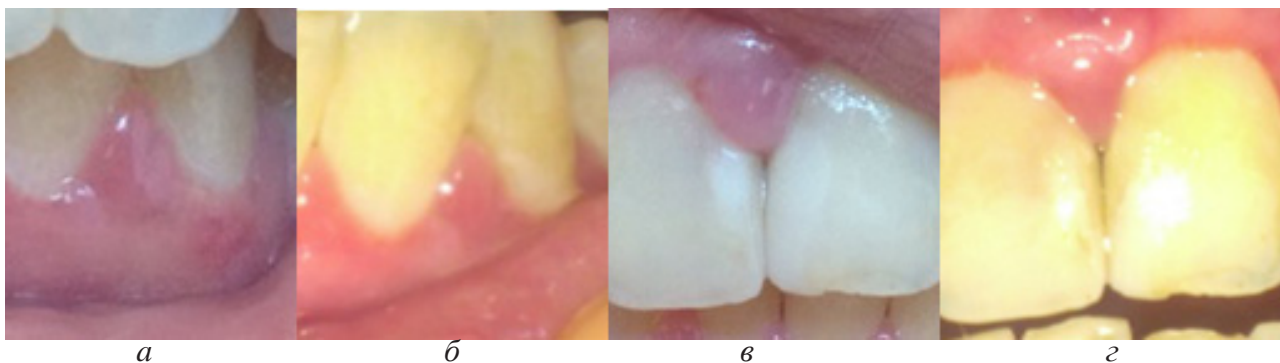


Рис. 3. Сравнительная клиника: а), в) – после недели местного применения «Метрогил Дента»; б), г) – через неделю лечения азитромицином

деструкции [2,4]. Пациентке сняли налет, повторно проинструктировали по гигиене. В рамках диспансеризации назначен визит спустя 3 месяца для контроля пародонтологического статуса и поддерживающей пародонтальной терапии. Рекомендовано наблюдение у гастроэнтеролога.

Ключевым моментом для успешного лечения является постановка правильного диагноза. К числу объективных клинических показателей, наиболее точно характеризующих пародонтальный статус, относятся: РМА, проба на кровоточивость, глубина пародонтального кармана (ПК), показатель убыли костной ткани (УКТ) и потеря эпителиального прикрепления (ПЭП) [1]. При небольшой ПЭП у пациента могут быть различные варианты глубины ПК за счет отека или гипертрофии маргинальной десны. Принимая за основной критерий глубину ПК, врач оценивает тяжесть ГП достаточно высоко. В этой же ситуации при I степени ХГП, особенно у молодых лиц, диагностика ПЭП требует направленного скрининга (ортопанорама) как в описанном клиническом отчете.

Причины гипертрофии десен анализируют на основании данных анамнеза о приеме медикаментов, гормональных контрацептивов, эндокринных заболеваниях, диабете, заболеваниях крови.

Менеджмент пациента с ХГП состоит из антибактериальной, местной пародонтальной терапии (протоколы предлагают еще и хирургическую пластику десны), междисциплинарного лечения и пожизненной поддерживающей пародонтальной терапии.

Этиотропная фаза терапии. Консервативная пародонтальная терапия составляет первую линию лечения при воспалительных заболеваниях пародонта. При I степени ХГП и небольшой убыли костной ткани возможно лечение без хирургических вмешательств с местным или системным применением антибиотиков в дополнение к механической терапии. Лечение должно начинаться с контроля или устранения этиологической зубной бляшки и способствующих ее развитию факторов. Механический контроль зубной бляшки достигают путем инструктажа, обучения пациента, демонстрации техник чистки зубов, использования флоссов или других interdentalных средств. Пациенту назначают дополнительно 0,12% или 0,2% хлоргексидин для ротовых полосканий с целью химического контроля зубной бляшки. Индивидуально подбирают зубные пасты с фторидами, антисептиками, противовоспалительными или снижающими чувствительность зубов агентами.

Механическая антимикробная терапия. Профессиональная гигиена и снятие зубных отложений (СЗО) устраняют микробную нагрузку в ПК и осуществляются двумя основными способами: поквadrантно, в течение двух недель или за один визит. Оба способа для пациента имеют одинаковую эффективность по клиническим параметрам. Известен еще один подход к механической одномоментной дезинфекции полости рта, разработанный Quirynen et al. [цит. по 16], который приводит к улучшенным клиническим и микробиологическим эффектам при ранних формах пародонтита (до 35 лет) по сравнению с поквadrантным СЗО. Метод предполагает полную ротовую дезинфекционную терапию (СЗО, полировка; чистка языка 1% хлоргексидином в течение 1 мин.; полоскания рта 0,2% хлоргексидином 2 мин.; ирригация ПК 1% хлоргексидином); проводится в 2 посещения в течение 24 часов.

Фотодинамическая терапия и лазер испытаны в качестве дополнения к механической терапии для подавления патогенных бактерий в ПК. Фотодинамическая терапия показала клинические результаты, подобные при СЗО с профессиональной гигиеной и обработкой корней при ХГП. Применение диодного лазера имеет лучший клинический и микробиологический эффекты при использовании в сочетании с СЗО.

Организация регулярных визитов или диспансерное наблюдение пациента каждую неделю необходимы особенно на ранних этапах лечения для определения эффективности индивидуальной гигиены полости рта и оценки реакции на консервативную терапию.

Антимикробная (химическая) терапия в менеджменте ХГП. Местное применение антимикробных агентов и их локальная доставка является вариантом лечения, особенно если у пациента имеются локализованные участки с экссудатом и глубокие ПК, которые не отвечают на механическую терапию и когда процесс находится в состоянии ремиссии. Местное применение препаратов обеспечивает высокую локальную концентрацию. Кроме того, этот вариант - единственный для пациентов, страдающих непереносимостью системных антибиотиков. В последнее время ведутся разработки матриц, которые позволяют медленно и длительно высвобождать и поддерживать концентрации антимикробных агентов местно. Решение об использовании этих препаратов зависит от индивидуальной клинической оценки, фазы лечения, предпочтений пациента.

Роль системной терапии в лечении генерализованного пародонтита. Известна терапевтическая эффектив-

ность многих антибиотиков и их комбинаций при лечении обострения ХГП. Системный прием антибиотиков в сопровождении или без СЗО и/или хирургических мероприятий обеспечивает лучший клинический эффект по сравнению с исключительно местной механической терапией [6,9,13].

Азитромицин имеет соответствующий антитимикробный спектр: уменьшает численность шести видов пародонтопатогенных бактерий, предупреждает транзиторную бактериемию в 80% случаев [13,14]. Исследования фармакокинетики азитромицина выявили, что в кревикулярной жидкости его концентрация превышает сывороточную, является стабильной и превышает минимальную ингибирующую концентрацию для основных пародонтопатогенов [10]. Ранее показано, что при тяжелом генерализованном пародонтите на фоне плохо контролируемого диабета с гиперплазией десны вследствие приема блокатора кальциевых каналов, эффект азитромицина в сочетании с консервативным пародонтологическим лечением приводит к исчезновению гиперплазии спустя 8 месяцев [9].

Авторами [2,4] клинически подтверждена эффективность адьювантной терапии азитромицином при лечении ХГП. Пролонгированное применение азитромицина в субкилинговых концентрациях от 12 недель до года реализует противовоспалительный, антидеструктивный и иммуномодулирующий эффекты, влияя на продукцию цитокинов, изменяя функции полиморфноядерных клеток, предотвращая чрезмерное воспаление и связанное с ним повреждение тканей [5,10,14]. Азитромицин крайне редко дает осложнения при длительном использовании (6 мес. и дольше), а частота аллергий составляет 0,1% [14,17]. Дисбиоз и связанные осложнения не развиваются, поскольку азитромицин не влияет на нормальную микрофлору кишечника, концентрируясь в очагах воспаления [10,15].

Хирургическое лечение проводится при гипертрофии десны при ХГП в тяжелых случаях и в случаях отсутствия эффекта от местных антисептических и склерозирующих средств.

Роль поддерживающей терапии в менеджменте ХГП. Регулярная поддерживающая пародонтальная терапия (ППТ) достоверно уменьшает риск потери зубов, начинается вскоре после активного лечения и продолжается пожизненно [11]. Частота ППТ зависит от индивидуальной реакции на лечение и других факторов, однако реже, чем при агрессивном пародонтите. При появлении первого клинического признака рецидива ХГП – кровоточивости следует начинать лечение и мониторинг до ее исчезновения.

Междисциплинарный подход к решению эстетических, функциональных и, возможно, психологических проблем при ХГП. Для некоторых пациентов необходимы ортодонтическое лечение с сопутствующим пародонтальным мониторингом и ортопедической реабилитацией с возможным использованием имплантов, а также психологическая поддержка.

Другие методы лечения и будущие тенденции в области менеджмента ХГП. Подавление усиленных реакций больного, восстановление баланса или регулирования нарушенных цитокиновых сетей или переключение иммунного ответа с Th1 на Th2 (противовоспалительный и защитный гуморальный) может предотвратить прогрессирование заболевания. Вмешательства, например, в виде рецептор-опосредованного антагонизма могли бы регулировать комплекс цитокиновых взаимосвязей, ограничивая тем самым сопутствующие повреждения в очагах воспаления. Однако, ввиду огромного количества потенциальных антигенов, которые могут влиять на следствия таких вмешательств, вряд ли такая иммуномодуляция станет клинической рутинной в ближайшее время [7].

Заключение. Несмотря на высокую распространенность ХГП, его активное лечение часто начинают при выраженной деструкции и потере костной ткани (II-III степень тяжести). За последние 10 лет практическая стоматология отказалась от теорий этиологического «нервизма» по поводу хронического пародонтита и признала ведущим фактором микробную биопленку. В настоящее время этиотропная антимикробная терапия является эффективным способом контроля микробной биопленки и имеет солидную доказательную базу. Применение этиотропной терапии в виде системного приема азитромицина при своевременном лечении пародонтита на ранних этапах деструкции теоретически может уменьшить распространенность тяжелых форм заболевания и предотвратить возникновение осложнений в будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоклицкая Г.Ф. Современный взгляд на классификации болезней пародонта. Ответ на приглашение к дискуссии, прозвучавшее в статье Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В. «Сучасні класифікації захворювань пародонту» в журнале «Імплантологія, пародонтологія, остеологія», 2006.-№4.-С.59-62 [электронный ресурс] Современная стоматология и зубное протезирование. Режим доступа: http://www.stomatology.org.ua/modules/myarticles/article.php?item_id=2.
2. Непокупная-Слободянюк Т.С., Скрипников П.Н. Клиническая эффективность длительного курса азитромицина при хроническом генерализованном пародонтите. Медицинские новости Грузии 2014; № 1(236): 27-31.

3. Силенко Ю.И., Мищенко В.П., Токарь Д.Л., Хавинсон В.Х. Влияние цитомедина пародонта на свободнорадикальное окисление липидов и антиагрегационную активность в нем при хроническом стрессе. *Стоматология* 1994; 4: 6-8.
4. Скрипников П.М., Непокупна-Слободянюк Т.С., Шинкевич В.І. Взаємозв'язок концентрації інтерлейкіну-1 бета в пародонтальних кишнях з клінічними результатами нехірургічного лікування хронічного генералізованого пародонтиту із застосуванням ад'ювантної антибіотикотерапії азитроміцином. *Український стоматологічний альманах* 2014; 1: 16-21.
5. Aminov R.I. Biotic acts of antibiotics. *Front Microbiol.* 2013; 19(4): 241.
6. Haffajee A.D., Socransky S.S., Gunsolley J.C. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Annals of Periodontology* 2003; 8(1): 115-181.
7. Hasan A., Palmer R.M. A. clinical guide to periodontology: Pathology of periodontal disease. *British Dental Journal.* 2014; 216: 457-461.
8. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J.* 2009; 54(1): S11-S26.
9. Hirsch R. Periodontal healing and bone regeneration in response to azithromycin. *Aust Dent J.* 2010; 55(2): 193-199.
10. Lai P.C., Ho W., Jain N., Walters J.D. Azithromycin concentrations in blood and gingival crevicular fluid after systemic administration. *J Periodontol.* 2011; 82(11): 1582-1586.
11. Lee C.T., Huang H.Y., Sun T.C., Karimbux N. Impact of Patient Compliance on Tooth Loss during Supportive Periodontal Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Dent Res.* 2015; 94(6): 777-786.
12. Lee C.E., Zembower T.R., Fotis M.A. et al. The incidence of antimicrobial allergies in hospitalized patients: implications regarding prescribing patterns and emerging bacterial resistance. *Arch. Intern. Med.* 2000; 160(18): 2819-2822.
13. Morozumi T., Kubota T., Abe D. et al. Effects of irrigation with an antiseptic and oral administration of azithromycin on bacteremia caused by scaling and root planning. *J Periodontol.* 2010; 81(11): 1555-1563.
14. O'Connor C.M., Dunne M.W., Pfeffer M.A. et al. Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the WIZARD study: a randomized controlled trial. *Investigations in the WIZARD Study JAMA* 2003; 290(11): 1459-1466.
15. Pomares X., Monton C., Espasa M. et al. Long-term azithromycin therapy in patients with severe COPD and repeated exacerbations. *Int J Chron Obstruct. Pulm. Dis.* 2011; 6: 449-456.
16. Roshna T., Nandakumar K. Generalized Aggressive Periodontitis and Its Treatment Options: Case Reports and Review of the Literature [електронний ресурс]. *Case Rep Med.* 2012; doi: 10.1155/2012/535321.
17. Shi ZL, Peng H, Hu XW, Hu JG. Effectiveness and safety of macrolides in bronchiectasis patients: A meta-analysis and systematic review [електронний ресурс]. *Pulm Pharmacol Ther.* 2013; doi:10.1016/j.pupt.2013.09.003.
18. Żyła T., Kawala B., Antoszewska-Smith J., Kawala M. Black stain and dental caries: a review of the literature. *Biomed Res Int.* 2015; [електронний ресурс]. 469392; doi: 10.1155/2015/469392.

SUMMARY

CHRONIC PERIODONTITIS WITH SYMPTOMATIC HYPERTROPHIC GINGIVITIS: CASE REPORT AND REVIEW OF THE LITERATURE

Shinkevich V., Udaltsova K., Pisarenko E., Kolomiets S., Khmil T.

*State Higher School of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy",
Department of Postgraduate Education for Dentists, Poltava, Ukraine*

Gingivitis in traditional national dentistry referred to independent diseases or symptomatic condition in periodontitis and classified morphologically. The diagnostic features of the diseases are characteristic, but the clinical presentation of symptomatic gingivitis and patterns of bone destructions may vary between patients. Successful treatment of the disease depends from proper diagnosis and advanced disease stages, but for symptomatic gingivitis that accompanying chronic periodontitis, protocols include surgical excision. Despite of the high prevalence of chronic generalized periodontitis, its active treatment often start in severe destruction and bone loss (2-3 stage severity). Today etiotropic antimicrobial therapy is real way to control

microbial biofilm and has solid evidence base. Applying of etiotropic antimicrobial therapy as systemic azithromycin with timely treatment of mild to moderate periodontal and bone destruction may reduce severe periodontitis incidence of and treatment-related complications in the future. This paper attempts to describe the clinical diagnostic features and the current treatment options along with a suggested protocol for comprehensive management of chronic generalized periodontitis and hypertrophic gingivitis patient with case reports and a brief review.

Keywords: generalized periodontitis, hypertrophic gingivitis, treatment options, azithromycin.

РЕЗЮМЕ

СИМПТОМАТИЧЕСКИЙ ГИПЕРТРОФИЧЕСКИЙ ГИНГИВИТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Шинкевич В.И., Удальцова К.А., Писаренко Е.А., Коломиец С.В., Хмиль Т.А.

Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», кафедра последипломного образования врачей-стоматологов, Полтава, Украина

Гингивиты рассматривают как самостоятельные или симптоматические заболевания при пародонтите и классифицируют морфологически. Диагностика гингивитов и пародонтита хорошо известна, однако клиника симптоматических гингивитов при пародонтите и поражение костной ткани отличаются среди пациентов. Успех лечения зависит от правильной диагностики и стадии заболевания. Для гипертрофического гингивита, сопровождающего пародонтит, протоколы предусматривают хирургическое иссечение. Несмотря на высокую распространенность хронического генерализованного пародонтита, его активное лечение часто начинают при выраженной деструкции и потере костной ткани (II-III степень тяжести). На сегодняшний день этиотропная антимикробная терапия является реальным способом контроля микробной биопленки и имеет солидную доказательную базу. Применение этиотропной терапии в виде системного приема азитромицина при своевременном лечении пародонтита на ранних этапах деструкции теоретически может уменьшить распространенность тяжелых форм заболевания и предотвратить возникновение осложнений в будущем.

В статье представлен краткий обзор по вопросу и описан клинический случай диагностики и вариант лечения и контроля хронического генерализованного пародонтита, сочетанного с гипертрофическим гингивитом.

რეზიუმე

სიმპტომური ჰიპერტროფული გინგივიტი ქრონიკული პაროდონტიტის დროს (ლიტერატურის მიმოხილვა და კლინიკური შემთხვევა)

ვ. შინკევიჩი, კ. უდალცოვა, ე. პისარენკო, ს. კოლომიეცი, ტ. ხმილი

უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური აკადემია, ექიმ-სტომატოლოგთა დიპლომის შემდგომი განათლების კათედრა, პოლტავა, უკრაინა

გინგივიტები განიხილება, როგორც დამოუკიდებელი ან სიმპტომური დაავადება პაროდონტიტის დროს. მათი კლასიფიცირება ხდება მორფოლოგიის გათვალისწინებით. გინგივიტების და პაროდონტიტის დიაგნოსტიკა კარგად არის ცნობილი, ხოლო პაროდონტიტის თანხლები სიმპტომური გინგივიტების კლინიკა და ძელოვანი ქსოვილის დაზიანება სხვადასხვა პაციენტში განსხვავებულია. მკურნალობის ეფექტი დამოკიდებულია დაავადების დროულ დიაგნოსტიკასა და განვითარების სტადიაზე. სადღეისოდ რეკომენდებულია პაროდონტიტის თანხლები ჰიპერტროფული გინგივიტის ქირურგიული მკურნალობა.

ქრონიკული გენერალიზებული პაროდონტიტის ფართო გავრცელების მიუხედავად, მის აქტიურ მკურნალობას ხშირად იწყებენ მხოლოდ მკაფიოდ გამოხატული დესტრუქციის და ძელოვანი ქსოვილის განღვევის შემდეგ (სიმძიმის II-III ხარისხი). ეტიოტროპული ანტიმიკრობული თერაპია სადღეისოდ მიკრობული ბიოფირფიტის კონტროლის რეალურ მეთოდს წარმოადგენს და აქვს სოლიდური დამადასტურებელი ბაზა. ეტიოტროპული მკურნალობა აზიტრომიცინის სისტემური მიღებით, დესტრუქციის ადრეულ ეტაპებზე პაროდონტიტის დროული და ადეკვატური მკურნალობის პარალელურად, შეამცირებს გინგივიტის მძიმე ფორმების და შემდგომი გართულებების განვითარებას. სტატიაში აღწერილია ჰიპერტროფული გინგივიტით თანხვედრილი ქრონიკული გენერალიზებული პაროდონტიტის დიაგნოსტიკის, მკურნალობისა და კონტროლის კლინიკური შემთხვევა და მოცემულია ლიტერატურის მოკლე მიმოხილვა საკითხის ირგვლივ.

ПОЛИМОРФИЗМ Gln27Glu ГЕНА β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ОЖИРЕНИЯ

Кадыкова О.И., Кравчун П.Г., Рындина Н.Г., Габисония Т.Н., Молотягин Д.Г.

*Харьковский национальный медицинский университет, кафедра внутренней медицины №2
и клинической иммунологии и аллергологии, Украина*

Значение ожирения как фактора риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в последнее время значительно возросло, так как распространенность ожирения в мировой популяции увеличилась, а ожирение у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) способствует ее прогрессированию и повышению смертности [1,2].

В последние годы активно ведутся исследования генетической предрасположенности к ССЗ и ожирению, выявлено множество полиморфизмов, претендующих на роль генетических маркеров [10]. Однако полученные данные противоречивы и требуют дальнейших уточнений в каждом конкретном случае.

Целью исследования явилось изучение полиморфизма Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов как возможного фактора патогенеза ожирения у больных ишемической болезнью сердца.

Материал и методы. В целях исследования проведено комплексное обследование 337 больных ишемической болезнью сердца (ИБС), находившихся на лечении в кардиологическом отделении Коммунального учреждения охраны здоровья Харьковской городской клинической больницы №27, которая является базовым лечебным учреждением кафедры внутренней медицины №2 и клинической иммунологии и аллергологии Харьковского национального медицинского университета МЗ Украины. Больные ИБС были распределены на две группы в зависимости от наличия ожирения: первая группа – больные ИБС с нормальной массой тела (n=115), вторая группа – пациенты с ИБС и ожирением (n=222). Контрольную группу составили 35 практически здоровых людей. Группы были сопоставимы по возрасту и полу. В исследование не включали больных с тяжелой сопутствующей патологией органов дыхания, пищеварения, почек и онкологическими заболеваниями.

Для характеристики ожирения определялся индекс массы тела (ИМТ) (индекс Кетле), который рассчитывали по формуле: вес (кг)/рост (м²). Всем больным проводили общие клинические и инструментальные обследования. Исследование аллельного полиморфизма Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов проводили методом полимеразной цепной реакции с электрофо-

ретической детекцией результатов с использованием наборов реактивов «SNP-ЭКСПРЕСС» производства ООО НПФ «Литех» (РФ).

Выделение ДНК из цельной крови выполняли с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» производства ООО НПФ «Литех» (РФ) в соответствии с инструкцией. На последующих этапах исследования проводили амплификацию последовательностей ДНК *in vitro* с использованием олигонуклеотидных праймеров, эндонуклеазы рестрикции и термостабильную Taq-полимеразу ООО НПФ «Литех» (РФ). Правильность распределения частот генотипов определялась соответствием равновесия Харди-Вайнберга ($p_i^2 + 2p_i p_j + p_j^2 = 1$). Согласно Хельсинкской декларации, все пациенты проинформированы о проведении клинического исследования и получено согласие на определение полиморфизма исследуемого гена.

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением пакета статистических программ «Statistica 8,0» (StatSoft Inc, США), Microsoft Office Excel-2003. Для сравнения распределения частот аллелей и генотипов между группами использовали критерии χ^2 Пирсона и Фишера. Для определения относительного риска развития заболевания рассчитывали отношение шансов (ОШ). Как отсутствие ассоциации рассматривали ОШ=1; как положительную ассоциацию (предрасположенность) – ОШ>1; как отрицательную ассоциацию аллеля или генотипа с заболеванием (низкий риск развития заболевания) считали ОШ<1. Доверительный интервал (ДИ) представляет собой интервал значений, в пределах которого с вероятностью 95% находится ожидаемое значение ОШ. Для всех видов анализа статистически значимым считали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Согласно результатам проведенного исследования, развитие ожирения у больных ИБС связано с геном G (ОШ=0,36, 95% ДИ=[0,19-0,67], $\chi^2=10,9$; $p < 0,05$) и G/G генотипом (ОШ=2,8, 95% ДИ=[1,5-5,2], $\chi^2=10,8$; $p < 0,05$) полиморфизма Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов, кроме того, полученные данные подтверждены результатами корреляционного анализа: аллель G и генотип G/G имели достоверные корреляционные связи с ИМТ ($r=0,71$; $p < 0,05$) и ($r=0,72$; $p < 0,05$) (таблица 1).

Таблица 1. Значение аллеля Glu (G) и генотипа G/G Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов в развитии ожирения у больных ИБС

Генетические маркеры	ОШ (95% ДИ)
Аллель Glu (G)	0,36 (0,19–0,67)
	$\chi^2=10,9$; $p<0,05$
Генотип G/G	2,8 (1,5-5,2)
	$\chi^2=10,8$; $p<0,05$

Таблица 2. Частота выявления аллелей и генотипов гена β_2 -адренорецепторов в зависимости от ИМТ у больных ИБС и ожирением

Генетические маркеры	I подгруппа - ожирение I ст. (n=80)	II подгруппа - ожирение II ст. (n=71)	III подгруппа - ожирение III ст. (n=71)
Аллель Gln (C)	31 (38,75%)	20 (28,17%)	13 (18,31%)
Аллель Glu (G)	49 (61,25%)	51 (71,83%)*	58 (81,69%)*#
Генотип Gln/Glu (C/G)	31 (38,75%)	23 (32,39%)	20 (28,17%)
Генотип Gln/Gln (C/C)	29 (36,25%)	25 (35,22%)	22 (30,98%)
Генотип Glu/Glu (G/G)	20 (25%)	23 (32,39%)*	29 (40,85%)*#

примечание: * – достоверность различий с I группой ($p < 0,05$);

– достоверность различий со II группой ($p < 0,05$)

Распространенность аллелей и генотипов в контрольной группе имела следующий характер: аллель Gln (C) встречался реже, чем аллель Glu (G) (n=16, что составило 45,71% против 19 - 54,29%), а генотипы C/G, G/G и C/C с частотой 42,86% (n=15), 17,14% (n=6) и 40% (n=14), соответственно.

С целью исследования влияния полиморфных вариантов гена β_2 -адренорецепторов (Gln27Glu) на степень прогрессирования ожирения больные разделены на подгруппы в зависимости от ИМТ: I подгруппа – больные ИБС и ожирением I ст. (n=80), II подгруппа – пациенты с ИБС и ожирением II ст. (n=71) и III подгруппа – ИБС и ожирение III ст. (n=71). При этом распределение частоты аллелей и генотипов у больных ИБС в зависимости от ИМТ продемонстрировало достоверное увеличение частоты выявления аллеля G (61,25%, 71,83% и 81,69%) и генотипа G/G (25%, 32,39% и 40,85%) параллельно увеличению массы тела ($p < 0,05$) (таблица 2).

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о том, что наличие аллеля G и генотипа G/G Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов являются факторами повышенного риска развития ожирения у больных ИБС, что не противоречит результатам других исследователей [6,11].

Проведено несколько исследований [3,8,10], изучающих связь полиморфизма Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов и ожирения, однако полученные результаты противоречивы. Например, Pereira T. и др. [9] сообщают, что Arg16Gly (rs1042713) не являлся основным фактором ожирения у японских мужчин, однако, считается, что полиморфизм указанного гена имел связь с ожирением

у японских женщин. В другом исследовании [6] продемонстрирована ассоциация полиморфизмов гена β_2 -адренорецепторов с ожирением у белых женщин. Тем не менее, Echwald S. [4] и Oberkofler H. [8] не обнаружили связи между полиморфизмами гена β_2 -адренорецепторов и ожирением.

В 2008 году Jalba M. и его коллеги [5] провели мета-анализ по ассоциации гена β_2 -адренорецепторов с ожирением. Проведенный статистический анализ по трем направлениям: сравнение гетерозигот (Gln/Glu против Gln/Gln), сравнение гомозигот (Glu/Glu против Gln/Gln) и доминирующей модели (Glu/Glu против Gln/Gln + Gln/Glu) показал, что rs1042714 может быть существенным фактором риска ожирения в Азии, на островах Тихого океана и у американских индейцев, но не у европейцев.

Поскольку вопрос связи полиморфизмов гена β_2 -адренорецепторов с ожирением по сей день остается спорным, а в литературе отсутствуют данные о взаимосвязи исследуемого полиморфизма гена с ожирением у лиц с сопутствующей ИБС, нами проведено собственное исследование. Полученные результаты показали, что существует значительная связь между наличием аллеля G и генотипа G/G Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов с ожирением у лиц с ИБС.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что наличие аллеля Glu (G) и генотипа G/G Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов, по всей вероятности, является фактором повышенного риска развития ожирения у больных ишемической болезнью сердца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akin I., Nienaber C.A. Obesity paradox” in coronary artery disease. *World J Cardiol.* 2015 Oct 26; 7(10): 603-608.
2. Bigvava T., Zamani S.M., Pieske-Kraigher E., Gebker R., Pieske B., Kelle S. Prognostic value of non-invasive stress testing for coronary artery disease in obese patients. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2015; 4: 1-8.
3. Caramelli D, Takenaka A, Nakamura S, Mitsunaga F, Inoue-Murayama M, et al. Human-Specific SNP in Obesity Genes, Adrenergic Receptor Beta2 (ADRB2), Beta3 (ADRB3), and PPAR γ 2 (PPARG), during Primate Evolution. *PLoS ONE* 2012; 7: e43461.
4. Echwald S.M., Sorensen T.I., Tybjaerg-Hansen A., Andersen T., Pedersen O. Gln27Glu variant of the human beta2-adrenoceptor gene is not associated with early-onset obesity in Danish men. *Diabetes* 1998; 47: 1657–1658.
5. Jalba M.S., Rhoads G.G., Demissie K. Association of codon 16 and codon 27 beta 2-adrenergic receptor gene polymorphisms with obesity: a meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16: 2096–2106.
6. Large V., Hellstrom L., Reynisdottir S., Lonnqvist F., Eriksson P., et al. Human beta-2 adrenoceptor gene poly-

- morphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function. *J Clin Invest* 1997; 100: 3005–3013.
7. Lee S., Kim C.M., Kim H.J., Park H.S. Interactive effects of main genotype, caloric intakes, and smoking status on risk of obesity. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2011; 20: 563–571.
 8. Oberkofler H., Esterbauer H., Hell E., Krempler F., Patsch W. The Gln27Glu polymorphism in the beta2-adrenergic receptor gene is not associated with morbid obesity in Austrian women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24: 388–390.
 9. Pereira T.V., Mingroni-Netto R.C., Yamada Y. ADRB2 and LEPR gene polymorphisms: synergistic effects on the risk of obesity in Japanese. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 1523–1527.
 10. Shah T., Sofat R., Sonia S., et al. Comparative analysis of genome-wide association studies signals for lipids, diabetes, and coronary heart disease: Cardiovascular Biomarker Genetics Collaboration. *Aspasia Angelakopoulou. Hingorani Eur Heart J.* 2012 February; 33(3): 393–407.
 11. Zhang H., Wu J., Yu L. Association of Gln27Glu and Arg16Gly Polymorphisms in Beta2-Adrenergic Receptor Gene with Obesity Susceptibility: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* 2014; 9(6): e100489.

SUMMARY

GENE POLYMORPHISM Gln27Glu β 2-ADRENERGIC RECEPTORS IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE AS A FACTOR OF DEVELOPMENT AND PROGRESSION OF OBESITY

Kadykova O., Kravchun P., Ryndina N., Gabisoniya T., Molotyagin D.

Kharkiv National Medical University, Department of Internal Medicine №2 and Clinical Immunology and Allergology, Ukraine

Currently large numbers of genetic markers that are closely linked to the development of cardiovascular diseases and obesity are identified.

The aim of our study was the study of polymorphism Gln27Glu β 2-adrenergic receptor gene as a possible factor in the pathogenesis of obesity in patients with coronary heart disease.

We conducted a comprehensive survey of 337 patients with coronary heart disease. All patients were divided into two groups according to the presence of obesity: the first

group - patients with coronary artery disease with normal body weight (n=115), the second group - patients with coronary heart disease and obesity (n=222). The control group consisted of 35 healthy people.

It was established that the presence of the G allele and genotype G/G Gln27Glu β 2-adrenergic receptor gene are at risk of development and progression of obesity in patients with coronary heart disease.

Keywords: ischemic heart disease, obesity, gene polymorphisms Gln27Glu β 2-adrenergic receptors, the risk factor.

РЕЗЮМЕ

ПОЛИМОРФИЗМ Gln27Glu ГЕНА β 2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ОЖИРЕНИЯ

Кадыкова О.И., Кравчун П.Г., Рындина Н.Г., Габисония Т.Н., Молотягин Д.Г.

Харьковский национальный медицинский университет, кафедра внутренней медицины №2 и клинической иммунологии и аллергологии, Украина

В настоящее время выявлено большое количество генетических маркеров, имеющих тесную связь

с развитием сердечно-сосудистых заболеваний и ожирения.

Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение полиморфизма Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов как возможного фактора патогенеза ожирения у больных ишемической болезнью сердца.

Проведено комплексное обследование 337 больных ишемической болезнью сердца. Больные распределены на две группы в зависимости от наличия ожирения: первая группа – больные ишемической болезнью

сердца с нормальной массой тела ($n=115$), вторая группа – пациенты с ишемической болезнью сердца и ожирением ($n=222$). Контрольную группу составили 35 практически здоровых лиц.

Установлено, что наличие аллеля G и генотипа G/G Gln27Glu гена β_2 -адренорецепторов является фактором повышенного риска развития и прогрессирования ожирения у больных ишемической болезнью сердца.

რეზიუმე

გენი Gln27Glu-ის β_2 -ადრენორეცეპტორების პოლიმორფიზმი პაციენტებში გულის იშემიური დაავადებით, როგორც სიმსუქნის განვითარების და პროგრესირების ფაქტორი

ო. კადიკოვა, პ. კრაქუნა, ნ. რინდინა, თ. გაბისონია, დ. მოლოტიავინი

ხარკოვის ნაციონალური სამედიცინო უნივერსიტეტის შინაგანი მედიცინის №2 და კლინიკური იმუნოლოგიის და ალერგოლოგიის კათედრა, უკრაინა

ამჟამად გამოვლენილია გენეტიკური მარკერების დიდი რაოდენობა, რომლებიც მჭიდროდ უკავშირდება კარდიოვასკულური დაავადებების და სიმსუქნის განვითარებას.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა გულის იშემიური დაავადებით პაციენტებში სიმსუქნის პათოგენეზის შესაძლო ფაქტორის დადგენა გენი Gln27Glu-ის β_2 -ადრენორეცეპტორების პოლიმორფიზმის შესწავლის საფუძველზე.

ჩატარებულია გულის იშემიური დაავადებით

პაციენტების ($n=337$) კომპლექსური კვლევა. პაციენტები სიმსუქნის გათვალისწინებით დაიყო ორ ჯგუფად: I ჯგუფი - გულის იშემიური დაავადებით და ნორმალური წონით ($n=115$), II ჯგუფი - გულის იშემიური დაავადებით და სიმსუქნით ($n=222$). საკონტროლო ჯგუფი შედგებოდა 35 ჯანმრთელი პირისაგან.

დადგინდა, რომ G-ალელი და გენოტიპის G/G Gln27Glu β_2 -ადრენორეცეპტორების გენის არსებობა წარმოადგენს სიმსუქნის განვითარების და პროგრესირების მაღალ რისკს პაციენტებში გულის იშემიური დაავადებით.

НЕКОТОРЫЕ КЛИНИКО-ЦИТОКИНОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ РЕКУРРЕНТНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ НА ФОНЕ ТОКСОКАРОЗНОЙ ИНВАЗИИ

Дралова А.А., Усачева Е.В.

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Паразитарные болезни по распространенности занимают третье место в мире. На сегодняшний день изучение заболеваемости токсокарозом и механизма поражения органов и тканей при токсокарозной инвазии среди детей разного возраста является актуальной проблемой инфектологии [1,8].

Известно, что у больных токсокарозом имеет место гиперреактивность бронхов. Формирование стойкого бронхообструктивного синдрома у пациентов с

токсокарозной инвазией отмечается, прежде всего, у детей, которые имеют склонность к аллергическим заболеваниям. Для токсокароза характерным является развитие иммунносупрессии. Исходя из изложенного, длительная массивная инвазия может привести к рекуррентному течению заболеваний дыхательной системы [7,9,10,12]. Однако, токсокароз - управляемое заболевание, своевременное выявление и лечение которого приводит к предотвращению рецидива респираторной патологии.

Одним из частых проявлений висцерального токсокароза является поражение дыхательной системы (у 20-50% больных). Выраженность этого поражения может проявляться от легких катаральных явлений до тяжелых бронхообструкций. Наиболее тяжелые поражения дыхательной системы наблюдаются у детей раннего возраста [2,3,5,11].

Ведущая роль в развитии иммунологических реакций принадлежит сенсibilизации организма экскреторно-секреторными антигенами, а также соматическими антигенами токсокар. При этом, основным патогенетическим фактором в острой фазе гельминтозов является аллергия. Количество аллергенов, необходимых для сенсibilизации и запуска аллергической реакции, весьма немногочисленно. В хронической фазе инвазии кроме специфических антигенов в патогенез включаются иммунные комплексы [7,10].

Основную роль в механизме противопаразитарного иммунитета играют эозинофилы. Механизм привлечения эозинофилов весьма сложный и много раз дублируется. В нем принимают участие лимфокины, которые выделяются сенсibilизированными лимфоцитами; низкомолекулярный хемотоксический фактор, продуцируемый нейтрофилами при взаимодействии с иммунными комплексами; лейкотриены, которые продуцируются лимфоцитами, нейтрофилами, тканевыми базофилами. Иммунные комплексы привлекают в очаг поражения эозинофилы, вследствие чего образуются эозинофильные инфильтраты. Эозинофилы частично разрушают иммунные комплексы, тем самым уменьшая тяжесть патологических реакций в тканях. Сенсibilизированные Т-лимфоциты, скопившиеся вокруг личинки, выделяют лимфотоксины, привлекают и активируют макрофаги и другие клетки, которые включаются в процесс формирования гранулем в различных органах и тканях [6,7].

На основании анализа опубликованных в литературе многочисленных данных, полученных в результате наблюдений за больными токсокарозом, предложена таблица диагностических ценностей клинических и лабораторных показателей при токсокарозе по L.T. Glickman, P.M. Schantz [4] (таблица 1). Диагноз токсокароза считается обоснованным при сочетании симптомов и показателей выше 12 баллов [5,7,8,9].

Наиболее стабильным лабораторным признаком токсокароза большинство ученых считают гиперэозинофилию периферической крови [2,10]. Относительный уровень эозинофилии может колебаться в широких границах, достигая иногда 70-80% и более. Иногда регистрируется так называемая бессимптомная эозинофилия крови, при которой клинические проявления инвазии отсутствуют, однако выявляются антитела к антигенам *T.canis* [6,9]. По данным других ученых [7], гиперэозинофилия не является обязательным симптомом токсокароза и не всегда регистрируется, что может ввести в заблуждение врача. Некоторые ученые отмечают прямую корреляцию между тяжестью клинических проявлений инвазии и уровнем эозинофилии, гиперлейкоцитозом периферической крови. Однако, данные, относительно частоты регистрации и патогенетического значения как эозинофилии, так и лейкоцитоза противоречивы [5,7].

Высокая вероятность поражения дыхательной системы и отсутствие некоторых данных об особенностях иммунного ответа при токсокарозной инвазии ставят перед необходимостью изучения клинических особенностей этого заболевания.

Целью исследования явился анализ клинико-цитокинных особенностей течения рекуррентных заболеваний дыхательной системы у детей на фоне токсокарозной инвазии.

Таблица 1. Диагностические ценности клинических и лабораторных признаков при токсокарозе по L.T. Glickman, P. M. Schantz [4]

Показатели	Баллы
Эозинофилия периферической крови	5
Лейкоцитоз	4
повышенная СОЭ	4
Гипергаммаглобулинемия	3
Гипоальбуминемия	3
Анемия	2
Рецидивирующая лихорадка	3,5
Легочный синдром	3,5
Рентгенологическое исследование легких	2
Увеличение размеров печени	4
Желудочно-кишечные расстройства	2
Неврологические расстройства	1,5
Кожные поражения	1
Лимфаденопатия	1

Материал и методы. Под наблюдением находились 50 детей в возрасте от 1 года до 17 лет (средний возраст - 10 ± 5 лет) с рекуррентным течением заболеваний дыхательной системы. Среди клинических проявлений поражения дыхательной системы на момент обследования отмечались: обструктивный бронхит (50%), бронхиальная астма (30%), пневмония (10%) и ларинготрахеит (10%). Все пациенты обследованы на наличие антител к токсокарам в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА). На основании обследования выделены две группы: основная (I группа), в состав которой вошли 20 детей с поражением дыхательной системы, инфицированные *Toxocara canis* (T. canis) и II группа (сравнения), которую составили 30 пациентов с поражением дыхательной системы, серонегативные к T. canis. В обеих группах пациенты были репрезентативными по возрасту и полу.

Детям обеих групп, кроме общепринятого клинического и лабораторного обследования, определяли иммунологические показатели сыворотки крови, в частности, уровни интерлейкинов 1 β , 5, 6 (ИЛ 1 β , ИЛ 5, 6) методом ИФА.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программных пакетов STATISTIKA v. 6.1 (SNANSOFT) с использованием непараметрических методов, при этом центральная тенденция и вариация показателей обозначались как Me (Q_{25} - Q_{75}), где Me – медиана, а Q_{25} и Q_{75} – верхний и нижний квартили, соответственно. Для сравнения двух независимых групп использовали U критерий Манна-Уитни, χ^2 Макнемара и критерии Стьюдента и Фишера.

Результаты и их обсуждение. Анализ клинического течения эпизода заболевания дыхательной системы у детей первой и второй групп выявил достоверное повышение температуры у большинства детей I группы, инфицированных T. canis – 8 (40%) детей в сравнении с детьми II группы - 8 (26,6%), $p < 0,05$, (таблица 2). При этом, продолжительность лихорадки была дольше у се-

роположительных к T. canis детей (от 3 до 10, в среднем, $3,8 \pm 4,8$ дней) в сравнении с неинфицированными (2-7, в среднем, $2,8 \pm 3,8$ дней). При объективном осмотре выявлено наличие одышки у 6 (30%) детей I группы и 2 (6,6%) – II группы, $p < 0,05$. Однако, выяснилось, что признаки дыхательной недостаточности раньше регистрировались еще у 4 больных, как серопозитивных к T. canis (20%) так и серонегативных (13,3%). У детей I группы при аускультации легких дольше прослушивалось жесткое дыхание с сухими и влажными хрипами. Следует отметить, что эпизоды бронхообструктивного синдрома у больных I группы отмечались, в среднем, до 5-6 раз в год, а у детей II группы - до 4. Увеличение периферических лимфатических узлов регистрировалось практически с одинаковой частотой в группах сравнения. Экзантема отмечена только у 2 (6,6%) серонегативных к T. canis детей.

Следует отметить, что гепатомегалия регистрировалась только у инфицированных T. canis 4 (20%) пациентов, что относится и к спленомегалии - 2 (10%) больных той же группы. У детей, сероположительных к T. canis, эпизод поражения дыхательной системы имел более длительное течение, выздоровление отмечалось на второй-третьей неделе лечения. При этом, пациенты без токсокарозной инвазии имели более легкое течение заболевания, которое завершалось выздоровлением на первой неделе лечения.

Анализ результатов общеклинического лабораторного обследования пациентов двух групп выявил некоторые особенности. Из таблицы 3 явствует, что у инфицированных T. canis детей с поражением дыхательной системы чаще отмечались «воспалительные» изменения со стороны периферической крови, в частности, достоверно высокие показатели количества лейкоцитов – $10,2 (9,0-12,0) \times 10^9/\text{л}$, ускоренная СОЭ - $17,0 (9,0-20,0)$ мм/ч и тенденция к увеличению количества палочкоядерных нейтрофилов – $9,0 (8,0-15,0)\%$, в сравнении с больными II группы - $8,5 (4,0-14,0)$, $p < 0,05$.

Таблица 2. Основные клинические проявления заболевания у детей двух групп наблюдения

Клинический симптом	Серопозитивные к T. canis (n=20)	Серонегативные к T. canis (n=30)	χ^2 Макнемара
лихорадка	8*	8*	$p = ,017^*$
длительность лихорадки (M \pm m)	$3,8 \pm 4,8$	$2,8 \pm 3,8$	$p = ,320$
одышка	6*	2*	$p = ,000^*$
дыхательная недостаточность	4*	4*	$p = ,001^*$
длительность бронхообструктивного синдрома (M \pm m)	$6 \pm 1,3$	$4 \pm 0,9$	$p = ,180$
лимфаденопатия	7	9	$p = ,140$
экзантема	0	2	-
гепатомегалия	4*	0*	$p = ,001^*$
спленомегалия	2	0	-

примечание: * – $p < 0,05$ между I и II группами по показателю χ^2 Макнемара

Таблица 3. Показатели общего анализа крови детей I и II групп наблюдения (Me (Q_{25} - Q_{75}))

Показатель	Сероположительные к <i>T.canis</i> (n=20)	Серонегативные к <i>T.canis</i> (n=30)	p (U)
лейкоциты, 10^9 /л	10,2 (9,0-12,0)*	7,0 (5,5-9,3)	0,001*
СОЭ, мм/ч	17,0 (9,0-20,0)*	10,0 (7,0-14,0)	0,03*
эозинофилы, %	3,0 (1,0-4,0)	1,5 (0-4,0)	0,19
палочкоядерные нейтрофилы, %	9,0 (8,0-15,0)	8,5 (4,0-14,0)	0,09
гемоглобин, г/л	121,0 (108,0-128,0)*	136,5 (124,0-145,0)	0,003*

примечание: * - $p < 0,05$ между I и II группами по данным критерия Манна-Уитни

Таблица 4. Показатели уровня ИЛ 1 β , ИЛ 5, ИЛ 6 в сыворотке крови у детей I и II групп (M \pm m)

Показатель	I группа (n=20)	II группа (n=30)
ИЛ 1 β , пг/мл	0,5 \pm 0,9	0,7 \pm 1,2
ИЛ 5, пг/мл	1,2 \pm 0,8*	2,0 \pm 1,1
ИЛ 6, пг/мл	0,7 \pm 0,9*	0,4 \pm 0,4

примечание: * - $p < 0,05$ относительно показателя во II группе

У детей I группы отмечалась тенденция к снижению уровня гемоглобина, хотя этот показатель и удерживался на уровне референтных значений - 121,0(108,0-128,0) г/л, против 136,5(124,0-145,0) г/л у пациентов II группы, $p < 0,05$. При этом, ожидаемых достоверных изменений со стороны содержания эозинофилов – клеток, которые играют ведущую роль в противопаразитарной защите, не выявлено.

Анализ иммунологических показателей сыворотки крови выявил некоторые особенности (таблица 4). У детей с поражением дыхательной системы, инфицированных *T.canis*, отмечался более высокий уровень провоспалительного ИЛ 6, в среднем, 0,7 \pm 0,9 пг/мл, чем у детей без токсокароза - 0,4 \pm 0,4 пг/мл, $p < 0,05$.

У детей обеих групп наблюдения отмечались почти одинаковые показатели уровней ИЛ 1 β : 0,5 \pm 0,9 и 0,7 \pm 1,2 пг/мл, соответственно. Считаем, что высокий уровень ИЛ 6 при отсутствии увеличения концентрации ИЛ 1 β в сыворотке крови инфицированных токсокарами детей является проявлением хронической фазы инфекционного процесса, обусловленного паразитом.

Неожиданные результаты получены относительно ИЛ 5, который является эозинофильным фактором и способствует противогельминтной защите в организме человека. Так, у пациентов I группы отмечались низкие уровни этого цитокина: 1,2 \pm 0,8 пг/мл в сравнении с 2,0 \pm 1,1 пг/мл у детей II группы. Низкий уровень ИЛ 5 в сыворотке крови детей, инфицированных токсокарами, по всей вероятности, свидетельствует о продуцировании личинками токсокар при длительном поражении защитных субстанций, которые маскируют их и об истощении физиологиче-

ских иммунных механизмов. Оба фактора приводят к неадекватной функции противогельминтной защиты в организме человека и длительной персистенции возбудителя.

Выводы

1. Поражение дыхательной системы при токсокарозной инвазии чаще протекает с выраженным интоксикационным и бронхообструктивным синдромами, сопровождается температурной реакцией, дыхательной недостаточностью и гепатомегалией. Характеризуется более пролонгированным течением заболевания.
2. У детей, инфицированных *T.canis*, с поражением дыхательной системы чаще регистрируются изменения в анализе крови, указывающие на воспалительный процесс: лейкоцитоз и ускоренная СОЭ, при отсутствии значимых лабораторных сдвигов «аллергического характера» (эозинофилия).
3. У детей с поражением дыхательной системы на фоне токсокарозной инвазии отмечается высокий уровень провоспалительного ИЛ 6, свидетельствующий о мощных воспалительных изменениях в организме инфицированных детей; низкий уровень ИЛ 5 указывает на способность личинок токсокар «уходить» от «специфической эозинофильной противопаразитарной защиты», что способствует длительному рецидивирующему течению болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдюхина Т.И., Константинова Т.Н., Прокошева М.Н. Современный взгляд на проблему гельминтозов у детей и эффективные пути ее решения. Лечащий врач 2004; 1: 24-29.

2. Бабак О.Я. Роль и место тканевых паразитозов в патологии человека. Медична газета Здоров'я України 2007; 7(1): 43-44.
3. Боднарчук В.О. Контрольованість бронхіальної астми у дітей, інфікованих токсокарами: наскільки можливою вона є сьогодні. Современная педиатрия 2010; 4(32): 58-61.
4. Грицко Р.Ю., Ворожбит О.Б. Токсокароз: актуальні аспекти діагностики та лікування. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія 2009. – № 1. – С. 78–83.
5. Ершова И.Б., Мочалова А.А., Черкасова С.Н., Чернова Е.В. Паразитарные инвазии в практике врача-педиатра. Здоровье ребенка 2007; 2(5): 19-24.
6. Зайков С.В. Взаимоотношения между гельминтозами и аллергическими заболеваниями. Новости медицины и фармации. Аллергология, пульмонология, иммунология 2009; 295: 12-16.
7. Казмирчук В.Е., Ковальчук Л.В., Мальцев Д.В. Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями. Киев: ВСИ «Медицина»; 2012: 520 с.; 181-185.
8. Машіка В.Ю. Діагностика токсокарозу у дітей. Науковий вісник ужгородського університету 2009; Вип. 36: 53-55.
9. Юлиш Е.И. Клиника, диагностика, лечение и профилактика гельминтозов у детей. Новости медицины и фармации 2011; 11-12: 15-18.
10. Carvalho EA, Rocha RL. Toxocariasis: visceral larva migrans in children. J Pediatr. 2011; 87: 10-15.
11. Macpherson CN. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: a zoonosis of global importance. Int.J.Parasitol. 2013; 43: 999-1008.
12. Smith H, Holland C, Taylor M, Magnaval JF, Schantz P, Maizels R. How common is human toxocariasis. Trends Parasitol. 2009; 25: 182–188.

SUMMARY

SOME CLINICAL AND CYTOKINE FEATURES OF THE CLINICAL COURSE OF RECURRENT RESPIRATORY SYSTEM DISEASES IN CHILDREN WITH THE TOXOCARIASIS INVASION

Dralova A., Usachova E.

Zaporozhye State Medical University, Ukraine

The aim of the present study was to analyze clinical and cytokine features of recurrent respiratory system diseases in children with toxocariasis.

50 children aged 1 to 17 years (mean age - 10±5 years) with recurrent current of respiratory system disorders were studied. During the survey such clinical manifestations of the respiratory system disorders as obstructive bronchitis (50%), bronchial asthma (30%), pneumonia (10%) and laryngotracheitis (10%) have been revealed.

Statistical analysis of the results was performed using the software package STATISTICA 6.1 (SNANSOFT).

We have shown that the disorders of respiratory system in case of toxocariasis invasion often occur with severe intoxication and bronchial obstruction syndromes, temperature reaction, respiratory insufficiency and hepatomegaly. A prolonged course of the disease has been noted. "Inflammatory" indicators of general blood analysis, such as leukocytosis and increased of ESR have been recorded in patients with respiratory system disorders in children with T.canis infection significantly more often, significant "allergic" laboratory changes were in the form of eosinophilia. High average levels of pro-inflammatory IL-6, as well as low levels of IL 5 have been determined in children suffering from the respiratory system disorders and with toxocariasis invasion in the anamnesis. The obtained findings require further study.

Keywords: toxocariasis invasion, respiratory system disorder, children, clinical course, cytokine profile.

РЕЗЮМЕ

НЕКОТОРЫЕ КЛИНИКО-ЦИТОКИНОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ РЕКУРРЕНТНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ НА ФОНЕ ТОКСОКАРОЗНОЙ ИНВАЗИИ

Дралова А.А., Усачева Е.В.

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Целью исследования явился анализ клинико-цитокинных особенностей течения рекуррентных заболеваний дыхательной системы у детей на фоне токсокарозной инвазии.

Под наблюдением находились 50 детей в возрасте от 1 года до 17 лет (средний возраст - 10±5 лет) с рекуррентным течением заболеваний дыхательной системы. Среди клинических проявлений поражения дыхательной системы на момент обследования отмечались обструктивный бронхит (50%), бронхиальная астма (30%), пневмония (10%) и ларинготрахеит (10%). Статистическая обработка полученных результатов проводилась с применением программных пакетов STATISTIKA v. 6.1 (SNANSOFT).

В результате проведенного исследования выявлено, что поражение дыхательной системы при токсокарозной инвазии чаще протекает с выраженным интоксикационным и бронхообструктивным синдромами, сопровождается температурной реакцией, дыхательной недостаточностью и гепатомегалией, характеризуется более пролонгированным течением заболевания. У

пациентов, инфицированных *T.canis*, с поражением дыхательной системы достоверно чаще регистрируются изменения в анализе крови, указывающие на воспалительный процесс: лейкоцитоз и ускоренная СОЭ при отсутствии значимых лабораторных сдвигов «аллергического характера» (эозинофилия). У детей с поражением дыхательной системы на фоне токсокарозной инвазии отмечаются высокие показатели средних уровней провоспалительного ИЛ 6 и низкий уровень ИЛ 5, что способствует длительному рецидивирующему течению болезни.

რეზიუმე

სასუნთქი სისტემის რეკურენტული დაავადებების კლინიკური და ციტოკინური თავისებურების შესწავლა ბავშვებში ტოქსოკაროზული ინვაზიის ფონზე

ა. დრალოვა, ე. უსანევა

ზაპოროჟიეს სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ზოგიერთი კლინიკურ-ციტოკინური თავისებურების შესწავლა სასუნთქი სისტემის რეკურენტული დაზიანების ფონზე ბავშვებში. დაკვირვების ქვეშ იმყოფებოდა 1-17 წლის ასაკის 50 ბავშვი (საშუალო ასაკი -

10±5 წელი) სასუნთქი სისტემის დაავადების რეკურენტული მიმდინარეობით. სასუნთქი სისტემის დაავადების კლინიკურ გამოხატულებათა შორის აღინიშნებოდა (%-ში): ობსტრუქციული ბრონქიტი - 50%, ბრონქული ასთმა - 30%, პნევმონია - 10%, ლარინგოტრაქეიტი - 10%. კვლევის შედეგად მიღებული მონაცემები დამუშავებულია პროგრამული პაკეტის STATISTIKA v. 6.1 გამოყენებით.

კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ სასუნთქი სისტემის დაავადება ტოქსოკაროზული ინვაზიის ფონზე ხშირად მიმდინარეობს გამოხატული ინტოქსიკაციით და ბრონქოლბსტრუქციული სინდრომით, რასაც თან ახლავს მაღალი ტემპერატურა, სუნთქვის უკმარისობა და ჰეპატომეგალია, ხასიათდება დაავადების გრძელვადიანი მიმდინარეობით. *T.canis*-ით ინფიცირებულ პაციენტებს სასუნთქი სისტემის დაავადებით სარწმუნოდ ხშირად აღენიშნება ცვლილებები სისხლში, რაც მიუთითებს ანთებით პროცესებზე: ლეიკოციტოზი და მომატებული ედს, მნიშვნელოვანი “ალერგიული ხასიათის” ლაბორატორიული ძვრების (ეოზინოფილია) გარეშე. ბავშვებს დაზიანებული სასუნთქი სისტემით ტოქსოკაროზული ინვაზიის ფონზე აღენიშნა პროანთებითი ინტერლეიკინ 6-ის საშუალო მაჩვენებლის მაღალი და ინტერლეიკინ 5-ის დაბალი დონე, რაც ხელს უწყობს დაავადების ხანგრძლივ რეციდივულ მიმდინარეობას.

HYPOTHALAMIC OREXINE SYSTEM ACCELERATES REGULATION OF SLEEP HOMEOSTASIS AND SLEEP-WAKEFULNESS CYCLE RECOVERY FROM BARBITURATE ANESTHESIA-INDUCED ARTIFICIAL SLEEP

Nachkebia N., Maglakelidze N., Chijavadze E., Chkhartishvili E., Babilodze M.

I. Beritashvili Centre of Experimental Biomedicine, Laboratory Neurobiology of Sleep-Wakefulness Cycle, Tbilisi, Georgia

Neuropeptides named as Orexin [17] and/or Hypocretin [7] were discovered in 1990's independently, but simultaneously, by two scientific groups, in dorsal, lateral, perifornical and posterior parts of hypothalamus [7,17]. Two sub-groups of Orexins – OrexinA and OrexinB and their respective Orexin-1 and Orexin-2 receptors were soon identified [17]. Since the discovery of the Orexin/Hypocretin neuro-peptides much information has been

gathered concerning their participation in regulation of feeding and energy homeostasis [6, 17,19], learning and memory [15], neuro-endocrine and cardiovascular control [16], sleep [1,2,3,7,8,10,12-14,18,19] etc., but their precise function is not known so far.

Using various experimental designs and research methods unequivocally has been proved the key role of Orexins in:

a) development of narcolepsy [4,9,11]; b) triggering and maintenance of wakefulness state and inhibition of REM sleep [1-3,8,10,13,14,18].

Relied primarily on the fact that Orexin neurons are involved in the triggering of wakefulness state we raised the question whether experimental serial activations of hypothalamic Orexin neuron containing regions can take part in acceleration of recovery from pathological states characterized by significant sleep-wakefulness disorders. In response to this question we have shown recently that serial electrical stimulations of posterior and perifornical hypothalamic orexin neuronal regions significantly accelerates recovery of wakefulness and sleep-wakefulness cycle (SWC) in general from experimental comatose state and anesthesia-induced sleep [5].

Above mentioned evidences has become the basis for the present study which was aimed to answer on some significant questions: whether Orexin-containing neurons of DH and/or LH and the brain Orexinergic system in general are also cellular targets for regulating of sleep homeostasis through the acceleration of recovery of wakefulness, and SWC in general, from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep.

Consideration of hypothalamic Orexinergic system as the neurophysiological substrate or cellular target necessary for the accelerated normalization of barbiturate anesthesia-induced artificial sleep is a priority and meaningful scientific novelty of presented work.

Materials and methods. Investigation was carried out on 18 wild type white rats (weight 200-250 gr). Surgery and electrodes implantation in: neocortical areas; hippocampus; dorsal hypothalamus (DH); lateral hypothalamus (LH); neck muscles; was made under general anesthesia (4% solution of chloral hydrate, 100ml/100 gr). During post-operative 7-10 days animals were under special care.

Experiment I. Experiment I comprised three groups of rats (n=3 in each group) which were subjected after post-operative recovery period to the systemic (i.p.) administration of Nembutal Sodium – group1 received 60 mg/kg, group2 received 70 mg/kg and group3 received 80 mg/kg doses. EEG registration of SWC was started 10 min after i.p. administration of Nembutal Sodium. 30 min after starting of the EEG registration serial electrical stimulations of DH (2-4v; 200c/sec; 0.1 msec) began. Stimulation period lasted for 1 hour with the 5 min intervals between subsequent stimulations applied by turn to the left and right DH. EEG registration continued continuously during 72 hour.

Experiment II. Experiment II comprised three groups of rats (n=3 in each group) which were subjected after post-

operative recovery period to the i.p. administration of Nembutal Sodium – group1 received 60 mg/kg, group2 received 70 mg/kg and group3 received 80 mg/kg doses. EEG registration of SWC was started 10 min after i.p. administration of Nembutal Sodium. 30 min after starting of the EEG registration serial electrical stimulations of LH (2-4v; 200c/sec; 0.1 msec) began. Procedure for electrical stimulation and EEG registration was the same as in Experiment I.

EEG registration of SWC was made by SAGURA EEG/PSG system. Results were treated statistically by Student's t test by computer program "FARM".

Results and their discussion. In experiments presented in this work we have studied the influence of serial electrical stimulations of DH and/or LH Orexin-containing neurons on the speed of replacement of barbiturate anesthesia-induced artificial sleep by wakefulness episode and EEG patterns characteristic for normal healthy sleep. We have found that such experimental design reveals significant acceleration of recovery from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep. Statistically high-significant effect was revealed in all of three cases of barbiturate anesthesia-induced artificial sleep (by 80 mg/kg; 70 mg/kg and 60 mg/kg. Fig. 1.1; 1.2; 1.3). It appeared, naturally, that spontaneous recovery of the first episodes of wakefulness was depended on the depth of anesthesia and in all three cases, presented on Fig.1, took 4.7 – 5 hours after administration of Nembutal Sodium. Serial electrical stimulations of LH and/or DH Orexin neuronal regions accelerated the recovery process equally and the first episode of wakefulness, in both experiments, depending on the dose of barbiturate anesthesia appeared 3 – 3.5 hour after finishing of serial electrical stimulations (Fig. 1.1, Fig. 1.2 and Fig. 1.3)

Statistically significant improvement was noted also in the duration of sleep latency (Fig. 2). We have found that recovery of full-value wakefulness rapidly leads to the reappearance of the first EEG episodes of deep non-REM sleep with the same EEG picture as in baseline recordings. Recovery rate depends again from the depth of barbiturate anesthesia-induced artificial sleep. Spontaneous recovery of non-REM sleep episodes without serial electrical stimulations of DH and/or LH started with an average of 5.4 hours (Fig. 2, white columns), while in experimental groups deep non-REM sleep recovery depending on the dose of barbiturate anesthesia started 4 – 3.5 hours from the cessation of electrical stimulations (Fig. 2. grey and black columns). These facts indicate that repetitive activations of DH and/or LH orexin neuronal regions regulates (through the acceleration of wakefulness recovery) disturbed sleep homeostasis and significantly accelerates recovery of deep non-REM sleep (Fig. 2, grey and black columns).

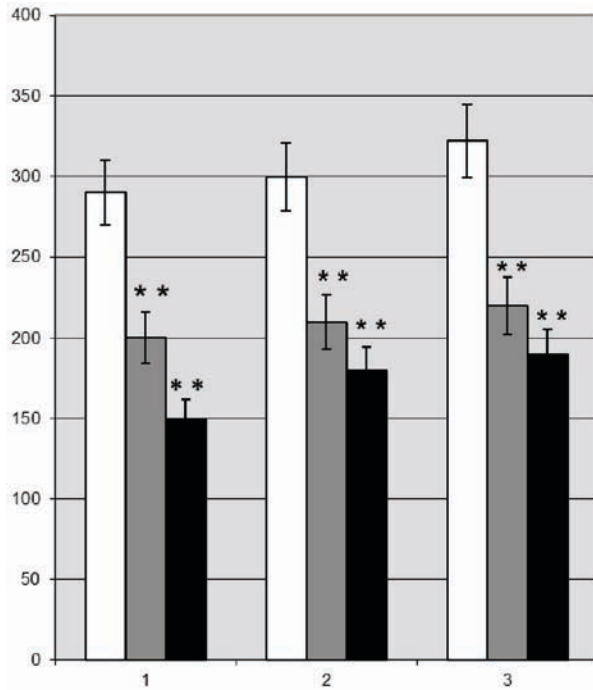


Fig. 1. Influence of serial electrical stimulations of DH and LH Orexine neuron containing regions on recovery rate of wakefulness from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep

On the ordinate – Time in min; on the abscissa: 1 – wakefulness recovery from 60 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep; 2 – wakefulness recovery from 70 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep; 3 – wakefulness recovery from 80 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep. White columns – spontaneous recovery of wakefulness without stimulations, gray columns – wakefulness recovery under serial electrical stimulations of DH, black columns – wakefulness recovery under serial electrical stimulations of LH. Experimental data were compared to the spontaneous recovery results without stimulations. ** = $p < 0.01$ was taken as the level of significance

It appeared that barbiturate anesthesia especially intensively affects the system triggering REM sleep. It produces sharp increase in REM sleep latency. During spontaneous recovery from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep the first episodes of REM sleep reappear with an average of 24 hours latency (Fig. 3, white columns) despite the fact that wakefulness and non-REM sleep are already recovered after 5-5.5 hours from the initiation of anesthesia. Serial activations of DH and LH Orexin-containing neurons significantly diminishes REM sleep latency. The first episode of this behavioral state starts appearing, depending of the doses of Nembutal Sodium, 10-11 h after cessation of repetitive electrical stimulations (Fig.3, grey and black columns). REM sleep recovery in itself is a direct indicator for whole normalization of sleep homeostasis in any pathological condition. Particularly for the present study the sharp speed up of REM sleep

recovery is considered as a direct indicator for the whole normalization of sleep homeostasis and recovery of natural sleep-wakefulness cycle from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep.

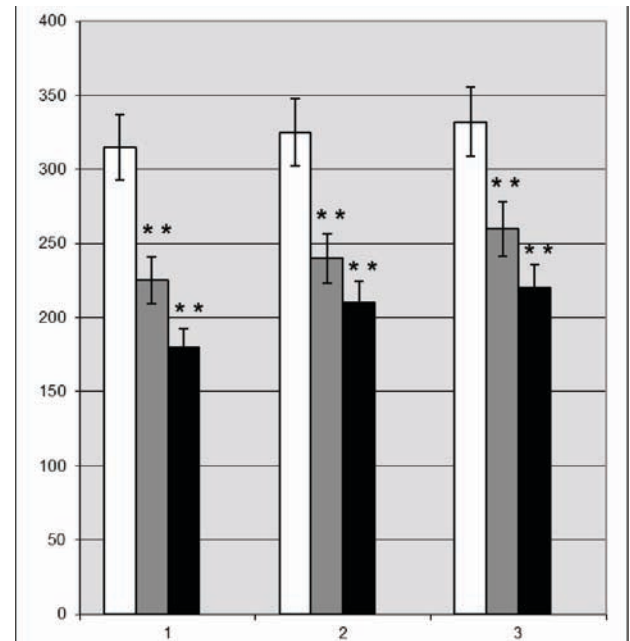


Fig. 2. Influence of serial electrical stimulations of DH and LH Orexine neuron containing regions on recovery rate of deep non-REM sleep from barbiturate-induced artificial sleep

On the ordinate – Time in min, on the abscissa: 1 – non-REM sleep recovery from 60 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep; 2 – non-REM sleep recovery from 70 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep; 3 – non-REM sleep recovery from 80 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep. White columns – spontaneous recovery of deep non-REM sleep without stimulations, grey columns – deep non-REM sleep recovery under serial electrical stimulations of DH, black columns – deep non-REM sleep recovery under serial electrical stimulations of LH. Experimental data were compared to the spontaneous recovery results without stimulations. ** = $p < 0.01$ was taken as the level of significance

Thus, new facts about the significance of DH and LH Orexine neurons for the acceleration of wakefulness and SWC recovery processes from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep has been obtained in the present work. The collation of these data to the results obtained by us recently [5] enables to make more general conclusion about the significance of hypothalamic orexin system for the accelerated recovery of normal SWC behavioral states from anesthesia-induced artificial sleep.

Significance of hypothalamic Orexin-containing neurons in wakefulness and sleep was shown by studies unequivocally indicating to the deficit of Orexin-containing neurons as the main factor leading to narcolepsy, disease characterized by sleep disorders and in-

trusions of REM sleep episodes in wakefulness state [4,9,11]. In other words, it was shown that deficiency of Orexin-containing neurons diminishes normal functioning of brain wakefulness and REM sleep systems [2,4,5,8,15,17,20]. Results of present investigation, obtained by us by means of absolutely different experimental design, support these earlier data and directly indicate to the significance of hypothalamic Orexin-containing neurons for normal functioning of wakefulness system but despite such a conclusion possible therapeutic meaning of hypothalamic Orexinergic system for normalization of pathological states characterized by wakefulness disturbances and whole disorder of SWC – that are experimental comatose state and anesthesia-induced deep sleep – was studied by us for the first time [5].

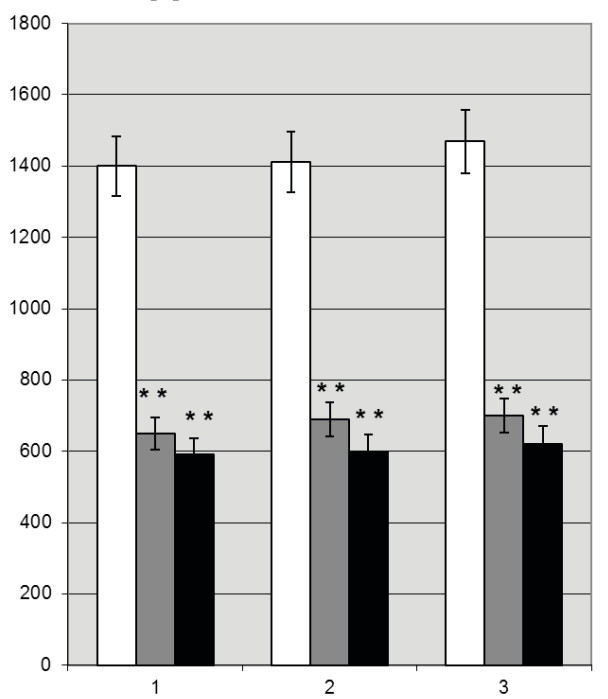


Fig. 3. Influence of serial electrical stimulations of DH and LH Orexine neuron containing regions on recovery rate of REM sleep from barbiturate-induced artificial sleep

On the ordinate – Time in min, on the abscissa: 1 – REM sleep recovery from 60 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep; 2 – REM sleep recovery from 70 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep; 3 – REM sleep recovery from 80 mg/kg of Nembutal Sodium induced artificial sleep. White columns – spontaneous recovery of REM sleep without stimulations, gray columns – REM sleep recovery under serial electrical stimulations of DH, black columns – REM sleep recovery under serial electrical stimulations of LH. Experimental data were compared to the spontaneous recovery results without stimulations. ** = $p < 0.01$ was taken as the level of significance

Thus new results have been obtained in present study concerning fast speed recovery of SWC phases and sleep

homeostasis from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep under the influence of serial artificial activations of DH and/or LH Orexinergic system. What are the neurophysiological mechanisms for serial electrical activations of Orexin-containing neurons to be the accelerator for SWC forced recovery?

Brain monoaminergic and cholinergic systems have been considered long ago as the basic parts for current models of sleep regulation. Sudden cessation of afferent pathways ascending from these regions to forebrain structures leads to whole disintegration of SWC and isolated forebrain falls into comatose state. Drastic changes in electrical activity of forebrain structures (neocortical areas and hippocampus) are characteristic features for experimental comatose state. Strong diminution of anatomical and functional interrelationship between brain stem and forebrain structures is also a direct target for general anesthesia-inducing drugs [Chloral hydrate, Nembutal Sodium]. Orexin-containing neurons have a broad projection to different forebrain and brainstem structures [4,8,11,12,15,18] with excitatory action on basal forebrain cholinergic neurons.

We believe that neurophysiological mechanism underlying serial activation of Orexin-containing neurons, to be the accelerator for the obtained faster speed recovery from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep, can be based on broad direct connections of these neurons to other forebrain structures, neocortex, thalamus and anterior hypothalamus [4,8,11,12,15,18]. These direct connections force functional interconnectivity between mentioned structures under serial electrical stimulations and physiologically it reveals in speed up of recovery of wakefulness and deep slow wave sleep normal EEG and behavioral sings.

Special interest deserves inability of REM sleep restoration after come out of comatose state [5] while after come out of barbiturate anesthesia-induced artificial sleep, under serial electrical stimulations of hypothalamic Orexin-containing neurons, there appears very fast-speed recovery of REM sleep.

Indeed, despite significant similarities between sleep disorders during these two pathological states mechanisms for their development are very different. Particularly comatose state is linked to the entire isolation of forebrain structures from midbrain and medullar regions and recovery of SWC phases from this state can be realized on the basis of forced put in action of forebrain neuroanatomical and neurochemical linkages. In the case of anesthesia-induced artificial sleep neuroanatomical and neurochemical linkage between forebrain and midbrain/medullar regions is switched off temporarily and with coming out from general narcosis normal functioning

of these connections gradually restores. Restoration becomes easier under artificial activation of hypothalamic Orexinergic system.

Our investigation have shown directly that the effect of hyper-activation of DH and LH Orexin systems on REM sleep recovery reveals in the only case when their connections with brainstem monoaminergic and cholinergic neuronal populations remains intact.

Thus, it can be conclude that serial electrical stimulations of DH and LH Orexin neurons significantly accelerates wakefulness recovery, regulation of sleep homeostasis and the rate of recovery for SWC phases from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep.

Acknowledgement. Supported by Shota Rustaveli National Science Foundation, Grant 11/04.

REFERENCES

1. Baxter C.A., Cleator E.D., Brands K.M.J., Edwards J.S., Reamer R.A., Sheen F.J., Stewart G.W., Strotman N.A. The First Large-Scale Synthesis of MK-4305: A Dual Orexin Receptor Antagonist for the Treatment of Sleep Disorder. *Organic Process Research & Development* 2011; 15(2): 367–375.
2. Bonnavion P., De Lecea L. Hypocretins in the control of sleep and wakefulness. *Current Neurological and Neuroscience Reports* 2010; 10: 174-179.
3. Brisbare-Roch C., Dingemans J., Koberstein R., Hoover P., Aissaoui H., Flores S., Mueller C., Nayler O., van Gerven J., De Haas S. L. Promotion of sleep by targeting the Orexin system in rats, dogs and humans. *Natural Medicine* 2007; 13: 150–155.
4. Burlet S., Tyler C.J., Leonard C.S. Direct and indirect excitation of latero-dorsal tegmental neurons by Hypocretin/Orexin peptides: implications for wakefulness and narcolepsy. *J Neuroscience* 2002; 22: 2862–2872.
5. Chivadze E., Chkhartishvili E., Babilodze M., Maglakelidze N., Nachkebia N. Influence of Serial Electrical Stimulations of Perifornical and Posterior Hypothalamic Orexin-Containing Neurons on Regulation of Sleep Homeostasis and Sleep-Wakefulness Cycle Recovery from Experimental Comatose State and Anesthesia-Induced Deep Sleep. *Georgian Medical News* 2013; 11 (224): 66- 72.
6. Davis J.F., Derrick L., Choi D.L., Benoit S.C. “Orexinergic Hypothalamic Peptides Behavior and Feeding”, in *Handbook of Behavior, Food and Nutrition*, Victor R. Preedy, Ronald Ross Watson, and Colin R. Martin, eds. Springer: 2011; 361-362.
7. De Lecea L., Kilduff T.S., Peyron C., Gao X., Foye P.E., Danielson P.E., Fukuhara C., Battenberg E.L., Gautvik V.T., Bartlett F.S. The Hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1998; 95:322–327.
8. España R.A., Baldo B.A., Kelley A.E., Berridge C.W. Wake-promoting and sleep-suppressing actions of Hypocretin (Orexin): Basal forebrain sites of action. *J Neuroscience* 2010; 106: 699-715.
9. Hara J., Beuckmann C.T., Nambu T., Willie J.T., Chemelli R.M., Sinton C.M., Sugiyama F., Yagami K., Goto K., Yanagisawa M. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. *Neuron* 2001; 30: 345–354.
10. Heifetz A., Morris G. B., Biggin, P. C., Barker O., Fryatt T., Bentley J., Hallett D., Manikowski, D. 10. Study of Human Orexin 1 and 2 GPCR Receptors, their Novel and Published Antagonists by Modeling, Molecular Dynamic Simulations and Site Directed Mutagenesis”. *Biochemistry* 2012; 12(32): 154-160.
11. Liu R.J., van den Pol A.N., Aghajanian G. K. Hypocretins (Orexins) regulate serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus by excitatory direct and inhibitory indirect actions. *J Neuroscience* 2002; 22: 9453–9464.
12. Liu Z.W., Gao X.B. Adenosine inhibits activity of hypocretin/orexin neurons via A1 receptor in the lateral hypothalamus: a possible sleep-promoting effect. *J Neurophysiology* 2007; 97(1): 837–848.
13. Mieda M., Sakurai T. Physiological roles of orexin receptors in sleep/wakefulness regulation. In: *Orexin and Sleep, molecular, functional and clinical aspects*. Eds. Sakurai T., Pandi-Perumal S.R., Monti J.M. 2015; 53-65.
14. Ohno K, Sakurai T. Orexin neuronal circuitry: role in the regulation of sleep and wakefulness. *Frontier Neuroendocrinology* 2008; 29(1): 70–87.
15. Raoof R., Esmaeili-Mahani S., Abbasnejad M., Raoof M., Sheibani V., Kooshki R., Amirkhosravi L., Rafie F. Changes in hippocampal orexin 1 receptor expression involved in tooth pain-induced learning and memory impairment in rats. *Neuropeptides* 2015; 50: 9-26.
16. Samson W.K., Bagley S.L., Ferguson A. V., White M.M. Hypocretin/orexin type 1 receptor in brain: role in cardiovascular control and the neuroendocrine response to immobilization stress. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 2007; 292: -R382- R87.
17. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli R. M, Tanaka H, Williams S. C, Richardson J. A, Kozlowski G. P, Wilson S, Arch J. R, Buckingham R. E, Haynes A. C, Carr S. A, Annan R. S, McNulty D. E, Liu W.S, Terrett. A, Elshourbagy N.A, Bergsma D.J, Yanagisawa M. Orexins and Orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92(4): 573–585.
18. Selbach O, Haas H. L. Hypocretins: the timing of sleep and waking. *Chronobiology International* 2006; 23(1–2): 63–70.
19. Tsujino N., Sakurai T. Orexin/Hypocretin: A Neuropeptide at the Interface of Sleep, Energy Homeostasis, and Reward System, *Pharmacol Review* 2009; 61: 162–176.

SUMMARY

HYPOTHALAMIC OREXINE SYSTEM ACCELERATES REGULATION OF SLEEP HOMEOSTASIS AND SLEEP-WAKEFULNESS CYCLE RECOVERY FROM BARBITURATE ANESTHESIA-INDUCED ARTIFICIAL SLEEP

Nachkebia N., Maglakelidze N., Chijavadze E., Chkhartishvili E., Babilodze M.

I. Beritashvili Centre of Experimental Biomedicine, Laboratory Neurobiology of Sleep-Wakefulness Cycle, Tbilisi, Georgia

The work was aimed for the ascertainment of following question – whether Orexin-containing neurons of dorsal and lateral hypothalamus and brain Orexinergic system in general are those cellular targets which can accelerate recovery of disturbed sleep homeostasis and restoration of sleep-wakefulness cycle behavioral states from barbiturate anesthesia-induced artificial sleep. Investigation was carried out on 18 wild type white rats (weight 200-250gr).

Different doses of Nembutal Sodium were used for the initiation of deep anesthesia. 30 min after barbiturate anesthesia induced artificial sleep serial electrical stimulations of dorsal or lateral hypothalamus were started. Stimulation period lasted for 1 hour with the 5 min intervals between subsequent stimulations applied by turn to the left and right side hypothalamic parts. EEG registration of cortical and hippocampal electrical activity was started 10 min after

intra-peritoneal administration of Nembutal Sodium and continued continuously during 72 hour.

According to obtained new evidences, serial electrical stimulations of dorsal and lateral hypothalamic Orexin-containing neurons significantly accelerate recovery of wakefulness, sleep homeostasis, disturbed because of barbiturate anesthesia induced artificial sleep and different behavioral states of sleep-wakefulness cycle.

Hypothalamic Orexin-containing neurons can be considered as the cellular targets for regulating of sleep homeostasis through the acceleration of recovery of wakefulness, and SWC in general, from barbiturate anesthesia-induced deep sleep.

Keywords: orexin neurons, dorsal and lateral hypothalamus, sleep-wakefulness cycle.

РЕЗЮМЕ

ОРЕКСИНОВАЯ СИСТЕМА ГИПОТАЛАМУСА УСКОРЯЕТ РЕГУЛЯЦИЮ ГОМЕОСТАЗА СНА И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЦИКЛА БОДРСТВОВАНИЕ-СОН ИЗ ИСКУССТВЕННОГО СНА, ВЫЗВАННОГО БАРБИТУРАТОВОЙ АНЕСТЕЗИЕЙ

Начкебия Н.Г., Маглакелидзе Н.Т., Чиджавадзе Э.О., Чхартишвили Э.В., Бабилодзе М.Р.

Центр экспериментальной биомедицины им. И.С. Бериташвили, лаборатория нейробиологии цикла бодрствование-сон, Тбилиси, Грузия

Целью исследования явилось выяснить является ли орексиновая система гипоталамуса нейробиологическим субстратом для ускорения регуляции нарушенного гомеостаза сна и акселерации восстановления поведенческих состояний цикла бодрствование-сон из искусственного сна, вызванного барбитуратовой анестезией.

Исследование проведено на 18 белых крысах весом 200-250 г. Анестезию вызывали с помощью различных доз этиламала натрия. Электрические раздражения орексиновых нейронов дорсального или латерального гипоталамуса начинались спустя 30 мин. после начала искусственного сна, вызванного барбитуратовой анестезией. Период раздражения продолжался в течение 1 часа с интервалом 5 мин. между раздражениями, которые применялись поочередно к латеральной и дорсальной частям левого и правого гипоталамуса. Цикл бодрствование-сон регистрировали непрерывно в течение 72 часов.

В результате проведенного исследования получены новые данные, которые показывают, что серийные электрические раздражения орексиновых нейронов дорсального или латерального гипоталамуса значительно улучшают регулирование нарушенного гомеостаза сна, что проявляется в акселерации выхода из искусственного сна, вызванного барбитуратовой анестезией и значительном ускорении восстановления поведенческих состояний цикла бодрствование-сон в целом.

Орексин-содержащие нейроны гипоталамуса могут быть рассмотрены как клеточная мишень для регуляции нарушенного гомеостаза сна и ускорения выхода из искусственного сна, вызванного барбитуратовой анестезией, через восстановление цикла бодрствование-сон в целом.

რეზიუმე

ჰიპოთალამუსის ორექსინის სისტემა აჩქარებს ძილის ჰომეოსტაზის რეგულაციას და ძილ-ღვიძილის ციკლის აღდგენას ბარბიტურატების ანესთეზიით გამოწვეული ხელოვნური ძილიდან

ნ. ნაჭყებია, ნ. მაღლაკელიძე, ე. ჩიჯავაძე,
ე. ჩხარტიშვილი, მ. ბაბილოძე

ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, ძილ-ღვიძილის ციკლის ნეირობიოლოგიის ლაბორატორია, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს შეადგენდა ჰიპოთალამუსის ორექსინერეული სისტემის როლის დადგენა ძილის დარღვეული ჰომეოსტაზის მოწესრიგების ფორსირების და ძილ-ღვიძილის ციკლის ქცევითი მდგომარეობების აღდგენის დაჩქარებისათვის ბარბიტურატებით ანესთეზიით გამოწვეული ხელოვნური ძილიდან.

გამოკვლევა ჩატარებულია 18 თეთრ ვირთავაზე (წონა - 200-250 გ). ნარკოზული ძილის გამოწვევა ხდებოდა ნატრიუმის ეთამინალის სხვადასხვა

დოზის გამოყენებით. დორსალური და/ან ლატერალური ჰიპოთალამუსის ელექტრული გაღიზიანება იწყებოდა ბარბიტურატებით გამოწვეული ხელოვნური ძილის დაწყებიდან 30 წთ-ის შემდეგ და გრძელდებოდა 1 სთ განმავლობაში, გაღიზიანებებს შორის 5 წთ-იანი ინტერვალებით. ძილ-ღვიძილის ციკლის რეგისტრაცია ხდებოდა უწყვეტად, 72 სთ განმავლობაში.

მიღებულია ახალი მონაცემები იმის შესახებ, რომ დორსალური და ლატერალური ჰიპოთალამუსის ორექსინის შემცველი ნეირონების სერიული ელექტრული გაღიზიანება მკვეთრად აუმჯობესებს ძილის დარღვეული ჰომეოსტაზის დარღვეულირების პროცესს, რაც ბარბიტურატებით გამოწვეული ხელოვნური ძილიდან გამოსვლის და ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზათა აღდგენის მნიშვნელოვან დაჩქარებაში ვლინდება.

ჰიპოთალამუსის ორექსინის შემცველი ნეირონები შეიძლება განხილულ იქნას, როგორც უჯრედული სამიზნე ძილის დარღვეული ჰომეოსტაზის დარღვეულირებისთვის, რაც ბარბიტურატებით გამოწვეული ხელოვნური ძილიდან ღვიძილის და ზოგადად ძილ-ღვიძილის ციკლის აღდგენის დაჩქარებით ხდება.

THE IMPORTANCE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES IN THE DIAGNOSIS OF CANCER OF UNKNOWN PRIMARY ORIGIN

¹Beisenayeva A., ²Cialkowska-Rysz A., ¹Zhumaliyeva V., ³Omarova I., ¹Kabildina N., ¹Sirota V.

¹Karaganda State Medical University, Kazakhstan; ²Medical University of Lodz, Poland;

³Karaganda Regional Cancer Center, Kazakhstan

According to the data of different authors patients with tumors of unknown primary origin make up 0.5-15% of oncologic patients seeking medical advice and the diagnosis of metastatic disease of uncertain origin is met somewhat more often among men than among women. Average age makes up 52 years for men and 51 years for women [1,8].

The term differentiation of tumor cells is used towards cells of parenchyma of tumor and designates the degree of their distance from normal cells of analogous issue both by morphological and by functional features. Depending on the degree of differentiation cancer cells are subdivided into high-grade, low-grade and undifferentiated or anaplasia- persistent loss of all cell's specific functions except the function of reproduction [1,8,9].

All benign tumors consist of highly differentiated cells almost indistinguishable from analogous cells of sound tissue. The cells of poorly differentiated and undifferentiated tumors have the appearance of primitive nonspecialized cells. Lack of the differentiation (anaplasia) is considered as a mark of a malignant transformation with high proliferative activity. Complexity of diagnosis and all the more treatment of patients and also, by poor results of special medical maintenance provoke most of oncologists feel pessimism towards the given group of patients [2,5,7].

Identification of the morphological structure of a tumor makes it possible to supposedly determine localization of the primary tumor that considerably facilitates search of the primary focus site [4,6].

The purpose of the research is to give characteristics to tumors of unknown primary by admission diagnosis and morphological diagnosis.

Material and methods. Treated cases with tumors of unknown primary at oncologic dispensary for 5 years were analyzed in details. There were 162 patients with tumors of unknown primary at age 5-84 years (the average age 49.9 ± 1.6) male and female, of different nationalities that were the object of clinico-laboratorial research.

In this study we examine the patients with tumors of unknown primary who corresponded to the diagnosis of undifferentiated tumors according to the histological and immunomorphological criteria of International histological classification of tumors [3].

Besides clinical, instrumental, cytological, morphological investigations immunohistochemical research of tumors was carried out by avidin-biotin-peroxydase method.

Depending on the pathogenetic diagnosis we picked out 9 groups of patients: 1. lymphoproliferative disorders (including lymphogranulomatosis), 2. carcinoma (poorly differentiated, serous, adenocarcinoma, ovarian carcinoma, metastases), 3. sarcoma (chondro –poorly differentiated, pseudo -spindle-cell, osteo-, myelo- small celled, fibro-lipo- gigantocellular,) 4. tumors of roots of nerves (neuroblastoma, schwannoma), 5. tumors of blood vessels, 6. melanoma, 7. dermoid cancer, 8. other tumors, 9. benign diseases.

Results and their discussion. Characteristic of patients with tumors of unknown primary was defined by admission diagnosis, that is according cytologic assessment (Table 1). There were 162 patients, from them 48 patients with lymphoproliferative disorders ($29,6 \pm 4,2\%$), 58 – with

carcinoma ($35,8 \pm 3,8\%$), 19 - with soft tissue sarcoma and osteosarcoma ($11,7 \pm 2,5\%$), 13 – with tumors of roots of nerves ($8,02 \pm 2,1\%$), 5 – with tumors of blood vessels ($3,1 \pm 1,4\%$), 8 – with melanoma ($4,9 \pm 1,7\%$), 8 – with other tumors ($4,9 \pm 1,7\%$), 3 – with benign diseases ($1,8 \pm 1,1\%$).

There is the characteristic of patients with tumors of unknown primary by morphological histotype (Table 2). Histological research involved all the patients, 44 patients had lymphoproliferative disorders ($27,2 \pm 3,5\%$), 54 had carcinoma ($33,3 \pm 4,3\%$), 20 had soft tissue sarcoma and osteosarcoma ($12,3 \pm 2,6\%$), 10 had tumors of roots of nerves ($6,2 \pm 1,9\%$), 1 had tumor of Blood vessels ($0,6 \pm 0,6\%$), 6 had melanoma ($3,7 \pm 1,5\%$), 6 had Dermoid cancer ($3,7 \pm 1,5\%$), 10 had other tumors ($6,2 \pm 1,9\%$), 11 had benign diseases ($6,8 \pm 2,0\%$).

It happened to be that diagnoses of 3 patients who had lymphoproliferative disorders by admission diagnosis were not confirmed by histological research (carcinoma was diagnosed only in 1 case and benign diseases in 2 cases). Patients with histological diagnoses tumors of roots of nerves and tumors of Blood vessels had the analogous situation: carcinoma was diagnosed for 3 patients with tumors of roots of nerves and benign diseases for 2 patients as a result of histological research. The 4 of 5 patients originally diagnosed with tumors of Blood vessels were diagnosed as patients with carcinoma (2 cases) and other tumors (2 cases) histologically.

11 patients were diagnosed with benign diseases at histological research, whereas at admission this pathology was diagnosed with 3 of 8 patients: 3 with lymphoproliferative disorders, 1 - with carcinoma, 2 - with sarcoma, 1 - with melanoma, 1 - with a tumor of roots of nerves. Dermoid cancer was diagnosed by histological research with 6 patients previously diagnosed with carcinoma.

Table 1. Characteristic of patients with tumors of unknown primary by admission diagnosis

Admission diagnosis (cytologic diagnostics)	Number of observations	M Mean,%	Error of mean m, %	Variation range	
				95% max.	95% min
Lymphoproliferative disorders (including LGM)	48	29,6	4,2	36,4	22,4
Carcinoma	58	35,8	3,8	43,3	28,3
Soft tissue sarcoma and osteosarcoma	19	11,7	2,5	12,1	11,3
Tumors of roots of nerves	13	8,0	2,1	8,4	7,7
Tumors of Blood vessels	5	3,12	1,4	3,3	2,9
Melanoma	8	4,9	1,7	5,2	4,7
Other tumors	8	4,9	1,7	5,2	4,7
Benign diseases	3	1,8	1,1	2,0	1,71

Table 2. Characteristic of patients with tumors of unknown primary by morphological histotype

Histological diagnosis	Number of observations	M mean %	Error of Mean m, %	Variation range Confidence interval	
				95% max.	95%min
Lymphoproliferative disorders (including LGM)	44	27,2	3,5	34,1	20,2
Carcinoma	54	33,3	4,3	40,8	25,8
Soft tissue sarcoma and osteosarcoma	20	12,3	2,6	12,7	11,9
Tumors of roots of nerves	10	6,2	1,9	6,5	5,9
Tumors of Blood vessels	1	0,6	0,6	0,7	0,5
Melanoma	6	3,7	1,5	3,9	3,5
Dermoid cancer	6	3,7	1,5	3,9	3,5
Other tumors	10	6,2	1,9	6,5	5,9
Benign diseases	11	6,8	2,0	7,1	6,5

Statistical discrimination of frequency of diagnoses determined cytologically at admission and with the help of the histological research are detected by using χ^2 -Pearson criterion ($\chi^2=515$, $p=0,00001$).

Characteristic of patients with tumors of unknown primary was also carried out by immunohistochemical phenotype (Table 3). Immunohistochemical research was carried out with all the patients; 45 of them were diagnosed with lymphoproliferative disorders (27,8±3,5%), 36 –with carcinoma (22,2±3,3%), 17- with sarcoma (10,5±2,4%), 23 – with tumors of roots of nerves (14,2±2,7%), 6 – with tumors of Blood vessels (3,7±1,5%), 8- with melanoma (4,9±1,7%), 7 – with dermoid cancer (4,3±1,6%), 10 – with other tumors (6,2±1,9%), 10 – with benign diseases (6,2±1,9%).

Immunohistochemical confirmation of histological diagnoses of the patients with lymphoproliferative disorders was received in all the cases and 1 patient was added who was diagnosed histologically with carcinoma. The diagnosis was confirmed immunohistologically with 36 patients of 54 with histologi-

cal diagnoses carcinoma, and the following pathologies were determined with the other 18: 2 - with dermoid cancer, 1 - with lymphoproliferative disorder, 6 -with tumors of roots of nerves, 1 - with benign diseases, 3 - with tumors of blood vessels, 2 - with melanoma, 2 - with sarcoma, 1 - with other tumors. Tumors of roots of nerves were immunohistologically determined with 23 patients, diagnoses of 10 of them were confirmed histologically, but other 13 patients had histologically determined following pathologies: 1 –dermoid cancer, 1 – lymphoproliferative disorders, 6 – carcinoma, 1 benign diseases, 3 – sarcoma, 1 – other tumors.

Analyzing diagnoses verified by different morphological methods determined that the number of coincidences is extremely high.

Significant difference between the admission diagnosis (that is cytologic) and its histological confirmation was not revealed in the hospital (χ^2 -Pearson criterion, $p>0.05$) for lymphoproliferative disorders, poorly differentiated with cancer, sarcomas, tumors of roots of nerves and

Table 3. Characteristic of patients with tumors of unknown primary by an immunohistochemical phenotype

Immunohistochemical diagnosis	Number of observations	M mean, %	Error of Mean m,%	Fluctuations range Confidence interval	
				95% max.	95% min
Lymphoproliferative disorders (including LGM)	45	27,8	3,5	34,8	20,7
Carcinoma	36	22,2	3,3	22,7	21,7
Sarcoma	17	10,5	2,4	10,9	10,1
Tumors of roots of nerves	23	14,2	2,7	14,6	13,8
Tumors of Blood vessels	6	3,7	1,5	3,9	3,5
Melanoma	8	4,9	1,7	5,2	4,7
Dermoid cancer	7	4,3	1,6	4,6	4,1
Other tumors	10	6,2	1,9	6,5	5,9
Benign diseases	10	6,2	1,9	6,5	5,9

Table 4. Comparison of cytologic and histological verifications of tumors of unknown primary

Groups of tumors by histogenesis	Cytologic diagnosis (%±m)	Histological diagnosis (%±m)	χ ² -Pearson criterion	
			χ ²	p
Lymphoproliferative disorders (including LGM)	29,6±4,2	27,2±3,5	0,44	>0.05
Carcinoma	35,8±3,8	33,3±4,3	0,43	>0.05
Soft tissue sarcoma and osteosarcoma	11,7±2,5	12,3±2,6	0,17	>0.05
Tumors of roots of nerves	8,0±2,1	6,2±1,9	0,64	>0.05
Tumors of Blood vessels	3,12±1,4	0,6±0,6	1,66	>0.05
Melanoma	4,9±1,7	3,7±1,5	0,53	>0.05
Dermoid cancer	-	3,7±1,5	2,47	p<0,05
Other tumors	4,9±1,7	6,2±1,9	0,51	>0.05
Benign diseases	1,8±1,1	6,8±2,0	2,19	p<0,05

Blood vessels, melanoma. Differentiation with cancer that is a dermoid cancer (3,7±1,5%) becomes possible at histological investigation and percentage of benign diseases statistically significantly increases from 1,8±1,1% till 6,8±2,0% (p<0,05). Cytologic over diagnosis toward tumors is shown (Table 4).

The difference in diagnoses made with the help of histological and immunohistochemical investigations is not statistically revealed (χ²=378, p=0,00001).

But significant difference of immunohistochemical and histological diagnoses of poorly differentiated carcinoma (p<0,05) and tumors of roots of nerves (p<0,05) was revealed when using χ²-Pearson criterion (Table 5). Histological overdiagnosis of poorly differentiated carcinoma by 11,1% (p<0,05) and hypodiagnoses of tumors of nerve tissue by 8,0% (p<0,05) are marked. Statistical differences are high (χ²=556, p=0,00001) by comparison of diagnoses diagnosed at admission and with the help of immunohistological investigation with using of coefficient χ².

Statistically significant difference is revealed based χ²-Pearson criterion by immunohistochemical confirmation of cytologic diagnosis for poorly differentiated carcinoma and benign diseases (Table 6). Cytologic over diagnosis of undifferentiated carcinoma by 13,6% (p<0,05) and hypodiagnosis of benign diseases by 4,4% (p<0,05) are marked. Adequacy between cytologic diagnoses made at admission and diagnoses made by results of histological and immunohistochemical investigations was carried out graphically with the help of correlation analysis by Spearman.

Fluctuations range of cytologic diagnosis concerning diagnosis made by histological investigation is shown in Drawing 1. Cytologic diagnosis of lymphoproliferative disorders, undifferentiated carcinoma, tumors of roots of nerves completely coincide with diagnoses made by histological research, fluctuation range is minor. Cytological diagnosis of soft tissue sarcoma and osteosarcoma, melanoma, other tumors and benign diseases has a wide range of dispersion around the diagnosis made by histological research, perhaps, because of low observation count (Fig. 1).

Table 5. Comparison of histological and immunohistochemical verifications of tumors with unknown primary

Groups of tumors by histogenesis	Histological diagnosis (%±m)	Immunohistochemical diagnosis (%±m)	χ ² -Pearson criterion	
			χ ²	p
Lymphoproliferative disorders (including LGM)	27,2±3,5	27,8±3,5	0,13	
Carcinoma	33,3±4,3	22,2±3,3	2,0	p<0,05
Soft tissue sarcoma and osteosarcoma	12,3±2,6	10,5±2,4	0,51	
Tumors of roots of nerves	6,2±1,9	14,2±2,7	2,5	p<0,05
Tumors of Blood vessels	0,6±0,6	3,7±1,5	1,91	
Melanoma	3,7±1,5	4,9±1,7	0,53	
Dermoid cancer	3,7±1,5	4,3±1,6	0,27	
Other tumors	6,2±1,9	6,2±1,9	0	

Table 6. Comparison of cytologic and immunohistochemical verifications of tumors of unknown primary

Groups of tumors by histogenesis	Cytologic diagnosis (%±m)	Immunohistochemical diagnosis (%±m)	χ ² Pearson criterion	
			χ ²	p
Lymphoproliferative disorders (including LGM)	29,6±4,2	27,8±3,5	0,003	
Carcinoma	35,8±3,8	22,2±3,3	2,7	p<0,05
Soft tissue sarcoma and osteosarcoma	11,7±2,5	10,5±2,4	0,35	
Tumors of roots of nerves	8,0±2,1	14,2±2,7	1,82	
Tumors of Blood vessels	3,12±1,4	3,7±1,5	0,28	
Melanoma	4,9±1,7	4,9±1,7	0	
Dermoid cancer	-	4,3±1,6	2,69	p<0,05
Other tumors	4,9±1,7	6,2±1,9	0,51	
Benign diseases	1,8±1,1	6,2±1,9	2,01	p<0,05

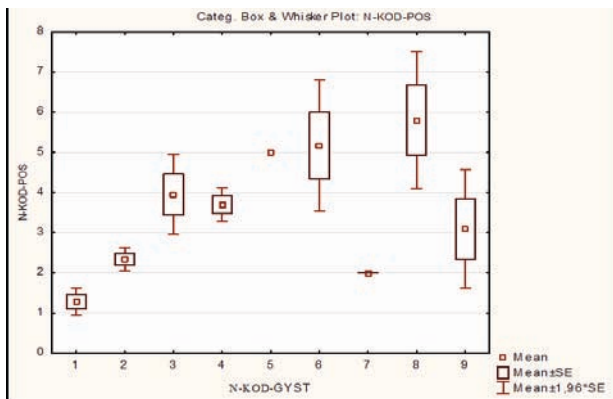


Fig. 1. Correlation of frequency of coincidence between cytologic and histological diagnoses of tumors of unknown primary

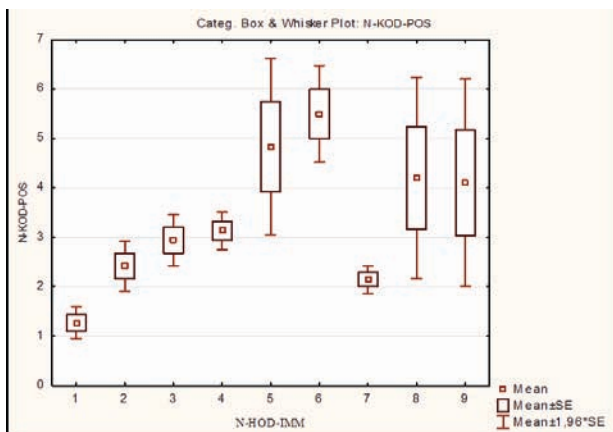


Fig. 2. Correlation of frequency of coincidence between cytologic and immunohistochemical diagnoses of tumors of unknown primary

The similar situation is observed by comparison of cytologic and histological diagnoses. Cytologic diagnosis of lymphoproliferative disorders, undifferentiated carcinoma, tumors of nerves of roots had complete confirmation by immunohistochemical investigations, the fluctuations range was narrower

(Fig. 2). And the cytologic diagnosis of the tumor of Blood vessels, other tumors and benign diseases had the fluctuations range wider than the diagnosis made by immunohistochemical research, their admission diagnostics is the least accurate, and cytologic verification of a tumor is possible from any group except lymphoproliferative disorders.

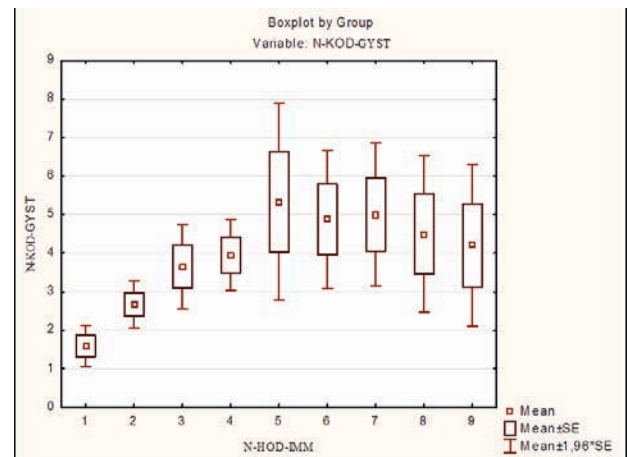


Fig. 3. Correlation of frequency of coincidence between histological and immunohistochemical diagnoses of tumors of unknown primary

The evenner picture is seen by comparison of histological and immunohistological diagnoses. Histological diagnosis of lymphoproliferative disorders, undifferentiated carcinoma, soft tissue sarcoma and osteosarcoma, tumors of roots of nerves histological diagnosis of lymphoproliferative disorders, undifferentiated carcinoma, soft tissue sarcoma and osteosarcoma, tumors of roots of nerves slightly fluctuates and has a high degree of confirmation by immunohistochemical research (Fig. 3). Histological diagnosis of tumors of Blood vessels, melanoma, dermoid cancer, other tumors and benign diseases don't often coincide with the diagnosis made by immunohistochemical investigations, and have a wide fluctuations range. Histological diagnosis of tumors may

Table 7. Spearman rank correlation coefficients of diagnoses of poorly differentiated tumors made cytologically, histologically and immunohistochemically

	Admission diagnosis	Histological diagnosis	Immunohistochemical diagnosis	Clinical outcome	Longevity
Admission diagnosis	1,000000	0,654215	0,607475	0,049174	0,002219
Histological diagnosis	0,654215	1,000000	0,585849	0,050015	-0,041906
Immunohistochemical diagnosis	0,607475	0,585849	1,000000	0,044539	-0,019198

immunohistologically be verified in any group except lymphoproliferative disorders.

Spearman's rank correlation coefficient was used with the purpose of statistical demonstration of existence of the connection between the two qualitative series of studied criteria (diagnoses) with the evaluation of their proximity of coincidence and quantitatively expressed rank correlation coefficient (Table 7). The results of the analysis of the rank correlation coefficients let us assert that distribution of the diagnoses made cytologically, histologically and immunohistochemically in groups has a statistically significant connection ($p < 0.05$), but their amount 0,58-0,65 corresponds to the mean degree and does not suppose a complete coincidence of diagnoses. Longevity (Life span) and clinical outcome did not have statistically significant connections with level of a diagnosis of poorly differentiated tumors made cytologically, histologically and immunohistochemically.

Conclusion: 1. The cases with poorly differentiated carcinoma (33,3±4,3%) and lymphoproliferative disorders (27,2±3,5%) dominate among the cases with tumors of unknown primary by histological research.

2. High degree of noncoincidence of cytologic and histological diagnoses ($\chi^2=515$, $p=0,00001$), histological and immunohistochemical diagnoses ($\chi^2=378$, $p=0,00001$), cytologic and immunohistochemical diagnoses ($\chi^2=556$, $p=0,00001$) were revealed.

3. Cytologic over diagnosis of undifferentiated carcinoma by 13,6% ($p < 0,05$) and hypodiagnosis of benign diseases by 4,4% ($p < 0,05$) and histological overdiagnosis of poorly differentiated carcinoma by 11,1% ($p < 0,05$) and hypodiagnoses of tumors of nerve tissue by 8,0% ($p < 0,05$) are marked, that points to the necessity of making immunohistochemical research in the case of given pathology.

4. Statistically significant connection of mean degree between diagnoses of poorly differentiated tumors made by cytologic, histological and immunohistochemical investigation is revealed.

REFERENCES

1. Alkatie S., Bello B., Martinez R.F., Geis W.P. Metastatic Adenocarcinoma of Unknown Origin Presenting as Small Bowel Perforation: A Case Report and Literature Review. *Journal Of Investigative Medicine High Impact Case Reports*. 2015; 23: 3(1).

2. Chen Z.E., Lin F. Application of immunohistochemistry in gastrointestinal and liver neoplasms: new markers and evolving practice. *Archives of pathology & laboratory medicine* 2015; 139(1):14-23.

3. Hamilton S.R., Aaltonen L.A. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. IARC Press: Lyon 2000; 314.

4. Greco F.A., Lenington W.J., Spigel D.R., Hainsworth J.D. Poorly differentiated neoplasms of unknown primary site: diagnostic usefulness of a molecular cancer classifier assay. *Molecular Diagnosis & Therapy* 2015; 19(2): 91-7.

5. Kim H.M., Kim do H., Jung W.H., Koo J.S. Metabolic phenotypes in primary unknown metastatic carcinoma. *Journal of Translational Medicine* 2014; 6: 122.

6. Malin R.D., Ionita E., Osman I. et al. Histopathological and immunohistochemical study of laterocervical lymph node metastases of unknown primary origin. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 2012; 53(2): 337-42.

7. Reuter V.E., Argani P., Delahunt B. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the kidney tumors: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference. *The American Journal of Surgical Pathology* 2014; 38(8): 35-49.

8. Schoenfield L. Uveal melanoma: A pathologist's perspective and review of translational developments. *Advances in Anatomic Pathology* 2014; 21(2): 138-43.

9. Soslow R.A., Wethington S.L., Cesari M., Chiappetta D. et al. Clinicopathologic analysis of matched primary and recurrent endometrial carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology* 2012; 36 (12): 1771-81.

SUMMARY

THE IMPORTANCE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES IN THE DIAGNOSIS OF CANCER OF UNKNOWN PRIMARY ORIGIN

¹Beisenayeva A., ²Cialkowska-Rysz A., ¹Zhumaliyeva V., ³Omarova I., ¹Kabildina N., ¹Sirota V.

¹Karaganda State Medical University, Kazakhstan; ²Medical University of Lodz, Poland; ³Karaganda Regional Cancer Center, Kazakhstan

The purpose of the research is to give a comparative diagnostic characteristic to tumors of unknown primary origin by admission diagnosis and morphological diagnosis.

162 treated cases with tumors of unknown primary at Oncologic Dispensary for 5 years were analyzed in details. Besides clinical, instrumental, cytological, morphological methods, immunohistochemical research of tumors was carried out by avidin-biotin-peroxydase tecnics.

The cases with poorly differentiated carcinoma (33,3±4,3%) and lymphoproliferative disorders (27,2±3,5%) prevailed among the cases with tumors of unknown primary by histological research. High degree of noncoincidence of cytologic and histological diagnoses ($\chi^2=515$, $p=0,00001$), histological and immunohistochemical diagnoses ($\chi^2=378$, $p=0,00001$), cytologic and immunohistochemical diagnoses ($\chi^2=556$, $p=0,00001$) were revealed.

Cytologic overdiagnosis of undifferentiated carcinoma by 13,6% ($p<0,05$) and hypodiagnosis of benign diseases by 4,4% ($p<0,05$) and histological overdiagnosis of poorly differentiated carcinoma by 11,1% ($p<0,05$) and hypodiagnosis of tumors of nerve tissue by 8,0% ($p<0,05$) are marked, that points to the necessity of making immunohistochemical research in the cases of given pathology. Statistically significant connection of mean degree between diagnoses of poorly differentiated tumors made by cytologic, histological and immunohistochemical investigation is revealed.

Keywords: tumors of unknown primary, diagnostics, immunohistochemical research.

РЕЗЮМЕ

ЗНАЧИМОСТЬ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ БЕЗ ПЕРВИЧНО-ВЫЯВЛЕННОГО ОЧАГА

¹Бейсенаева А.Р., ²Циалковская-Рыж А.Д.,
¹Жумалиева В.А., ³Омарова И.М.,
¹Кабилдина Н.А., ¹Сирота В.Б.

¹Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан; ²Медицинский университет, Лодз, Польша; ³Областной онкологический диспансер, Караганда, Казахстан

Целью исследования явилась сравнительно-диагностическая характеристика опухолей без выявленного первично очага по диагнозу при поступлении больного в стационар и по морфологическому диагнозу.

Исследованы 162 случая опухолей без первично выявленного очага в Карагандинском областном онкологическом диспансере за 2006-2010 гг. Пациентам помимо клинических, инструментальных, цитологических и гистопатологических исследований проведено иммуногистохимическое исследование опухоли авидин-биотин-пероксидазной техникой.

В структуре пациентов с опухолями без первично-выявленного очага при гистопатологическом исследовании преобладали пациенты с низкодифференцированной карциномой - 33,3±4,3% и лимфопролиферативной патологией - 27,2±3,5%. Выявлена высокая степень несовпадения диагнозов цитологического и гистопатологического ($\chi^2=515$, $p=0,00001$), гистопатологического и иммуногистохимического ($\chi^2=378$, $p=0,00001$), цитологического и иммуногистохимического ($\chi^2=556$, $p=0,00001$).

На основании проведенных исследований следует заключить, что цитологическая гипердиагностика низкодифференцированных карцином имеет место в 13,6%, гиподиагностика доброкачественных изменений - в 4,4%; гистологическая гипердиагностика низкодифференцированной карциномы - в 11,1%, гиподиагностика злокачественной опухоли нервных тканей - в 8,0%, что указывает на необходимость проведения иммуногистохимических исследований при данной патологии. Выявлена статистически значимая корреляция средней степени между диагнозами опухолей без первично-выявленного очага, установленных при поступлении, и гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях.

რეზიუმე

იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის მნიშვნელობა დაუდგენელი პირველადი კერით სიმსივნეების დიაგნოსტიკისათვის

¹ა. ბეისენაევა, ²ა. ციალკოვსკაია-რიჟი, ¹ვ. ჟუმალიევა, ³ი. ომაროვა, ¹ნ. კაბილდინა, ¹ვ. სიროტა

¹ყარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ყაზახეთი; ²ლოდის სამედიცინო უნივერსიტეტი, პოლონეთი; ³ყარაგანდის საოლქო ონკოლოგიური დისპანსერი, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა დიაგნოსტიკის მეთოდების შედარებითი შეფასება სიმსივნეებში დაუდგენელი პირველადი კერით შემოსვლის დიაგნოსისა და მისი მორფოლოგიური ვერიფიკაციის მიხედვით.

შესწავლილია 162 პაციენტი სიმსივნის დაუდგენელი პირველადი კერით. კლინიკურ-ინსტრუმენტული, ციტოლოგიური და ჰისტოპათოლოგიური კვლევის გარდა, ჩატარდა იმუნოჰისტოქიმიური ტესტირება ავიდინ-ბიოტინ-პეროქსიდაზური ტექნოლოგიით.

სიმსივნეებში დაუდგენელი პირველადი კერით ჰისტოპათოლოგიურად გამოვლინდა დაბალდифერენცირებული კარცინომის - 33,3±4,3% და ლიმფოპროლიფერაციული პათოლოგიის

- $27,2 \pm 3,5$ პრევალირება. დადგინდა ციტოლოგიური და ჰისტოპათოლოგიური ($\chi^2=515, p=0,00001$), ჰისტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური ($\chi^2=378, p=0,00001$), ციტოლოგიური და იმუნოჰისტოქიმიური ($\chi^2=556, p=0,00001$) დიაგნოზების არათანხვედრილობის მაღალი ხარისხი.

ციტოლოგიური ჰიპერდიაგნოსტიკა დაბალდიფერენცირებული კარცინომისა შეადგენს 13,6%-ს, კეთილთვისებიანი სიმსივნეების ჰიპოდიაგნოსტიკა - 4,4%-ს; ჰისტოპათოლოგიური ჰიპერდიაგნოსტიკა დაბალდიფერენცირებული კარცინომებისა - 11,1%-ს, ნერვული ქსოვილის ავთვისებიანი სიმსივნეების ჰიპოდიაგნოსტიკა - 8%-ს, რაც მოცემული პათოლოგიის დროს იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის აუცილებლობაზე მიუთითებს. აღინიშნება სტატისტიკურად სარწმუნო საშუალო ხარისხის კორელაცია შემოსვლის დიაგნოზსა და იმუნოჰისტოქიმიურ კვლევის შედეგებს შორის სიმსივნეების მიმართ დაუდგენელი პირველადი კერით.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА И РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В ПОДДЕРЖАНИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА В ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Джоджуа Н.Н., Гонгадзе Н.В., Митагвария Н.П.

*Тбилисский государственный медицинский университет,
Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, Грузия*

Известно, что температура ткани головного мозга при постоянных условиях теплопередачи определяется динамикой кровотока в головном мозге и менингеальных сосудах. Основываясь на данных взаимосвязи кровотока и метаболизма, приведенных в литературе, для функциональных нагрузок, активирующих те или иные структуры головного мозга, установлено, что для коры головного мозга отклонения температуры могут колебаться в пределах $0,12^{\circ}\text{C}$, а для белого вещества - в пределах $0,07^{\circ}\text{C}$ [1]. Однако головной мозг может подвергаться и весьма существенным температурным воздействиям экзогенного характера, защита от которых имеет принципиальное значение для его нормального функционирования. Данный вопрос имеет особенно важное значение при использовании в онкологической клинике относительно нового, гипертермического метода лечения, как в случае локальной гипертермии, так и общей, управляемой гипертермии всего тела, когда наряду с опухолевой тканью температурному воздействию подвергается и нормальная ткань. В частности, в ранее проведенных нами экспериментальных исследованиях эффектов локальной гипертермии (ЛГ) головного мозга было установлено, что ЛГ (43°C , экспозиция 60 мин.) может привести к существенным морфофизиологическим изменениям в нормальной ткани [4]. В указанной работе температурному воздействию подвергалась непосредственно кора головного мозга, но каковы же будут температурные колебания в ткани головного мозга, когда воздействию подвергается все тело и

герметичность черепа в процессе температурного воздействия не нарушена и какова будет роль оксида азота при этом, требует дальнейших исследований, так как хорошо известно, что при температурном воздействии может произойти активация не только конституциональных, но и индуцибельной форм синтазы оксида азота. Температурное воздействие может оказать влияние и на реологические свойства крови, в частности, на агрегируемость эритроцитов, что, в свою очередь, может нарушить процесс терморегуляции в ткани головного мозга.

Целью исследования явилось изучение влияния оксида азота и реологических свойств крови на ауторегуляцию температурного гомеостаза в ткани головного мозга.

Материал и методы. Экспериментальным животным (белые крысы, линии Вистар массой 200-250 г.) в головной мозг имплантировали специально для этой цели изготовленные (Bicher Cancer Institute, Los Angeles, USA) тонкие, покрытые тефлоновой изоляцией, термодпары с общим диаметром 300-400 мкм, активный кончик которых был оголен, примерно, на 1,5-2 мм. Термопара погружалась в подкорковые структуры (в зоне таламических ядер), а ее фишка (коннектор) фиксировалась на черепе. На третий день после операции хронической имплантации термодпары животные наркотизировались (0,15 мл/100г 4% раствор хлорал гидрата) и помещались на столике в гипертермической кабине

(рис. 1). Отвод от фишки посредством теплоизолированного кабеля подключали к цифровому измерителю температуры (Omega Engineering, Inc., USA). Проведены две серии опытов на группах животных (по 12 в каждой) с имплантированными термодатчиками: (а) «интактные», которым предварительно (до гипертермии) не вводились какие-либо фармакологические вещества; (б) группа, которой за 15 минут до начала гипертермической экспозиции интраперитонеально вводили неселективный ингибитор синтазы оксида азота нитро-L-фургинин метиловый эфир (L-NAME) (50 мг/кг). Температуру как в гипертермической кабине, так и в ткани головного мозга животных измеряли непрерывно. Повышение температуры в кабине осуществлялось постепенно в течение 25-30 минут до 45°C и этот уровень автоматически поддерживался в течение 60 минут, а в дальнейшем, в зависимости от состояния животного, продолжали повышение температуры до 48-50°C. На отдельных (без имплантации термодатчиков) двух группах животных (по 12 крыс в каждой) – интактных и с предварительно введенным L-NAME (в указанной выше дозе) при различных температурах в гипертермической кабине определяли индекс агрегации эритроцитов – один из важнейших реологических показателей крови. Для этой цели использовали методику, разработанную проф. Г.И. Мчедlishvili и известную под названием “Georgian technique” [13].

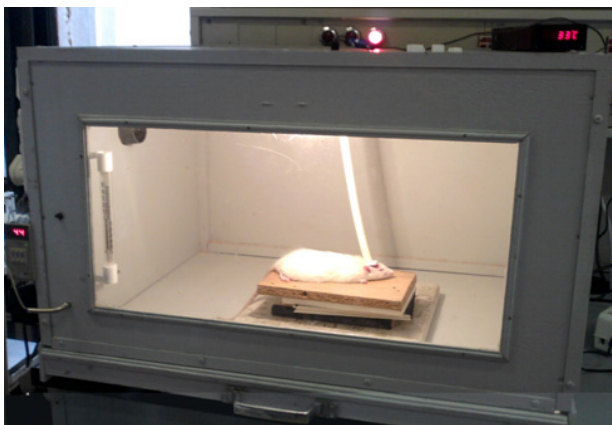


Рис. 1. Наркотизированная крыса в гипертермической кабине

Полученные в результате измерений данные обрабатывались статистически, достоверность разницы между средними величинами оценивалась по критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. На рис. 2 приводятся результаты измерений температуры в ткани головного мозга при повышении температуры в гипертермической кабине от 38 до 45°C (в течение 30 минут), затем удерживали ее на этом уровне в течение 60 минут и в дальнейшем в течение еще 75 минут температура в кабине повышалась до уровня 50°C. Как видно из представленного рисунка, температура в ткани голов-

ного мозга, которая у постоперационных животных до начала гипертермии составляла, в среднем, 33°C, начинает повышаться одновременно с началом общей гипертермии и при достижении в кабине 45°C, устанавливается, в среднем, на уровне 36.5°C. Несмотря на то, что 45-градусная экспозиция длится в течение одного часа, температура в ткани головного мозга удивительно стабильно держится, в среднем, на уровне 36-37°C. Однако, если продолжить повышение температуры в гипертермической кабине и поднять ее хотя бы на один градус, стабильность температуры в головном мозге животных нарушается и она, практически линейно следует за повышением температуры окружающего воздуха.



Рис. 2. Данные по изменению температуры в гипертермической кабине (темные столбики) – которая автоматически регулируется на уровне, задаваемом экспериментатором; в ткани головного мозга (светлые столбики) – непрерывно измеряются термодатчиком, имплантированной в ткань головного мозга. По оси ординат – температура (градусы Цельсия), по оси абсцисс – время (минуты)

Принципиально иная картина наблюдалась, если до начала гипертермической экспозиции животному вводилась интраперитонеальная инъекция неселективного ингибитора синтаз оксида азота L-NAME в дозе 50 мг/кг. Результаты измерений, проведенных на таких животных в абсолютно тех же условиях опыта, представлены на рис. 3.

Кривая изменения температуры в гипертермической кабине на рис. 3 (как во времени, так и по абсолютным величинам температуры) полностью совпадает с таковой на предыдущем рисунке. Однако, принципиально изменилась динамика показателя температуры в ткани головного мозга – температурное плато, имеющее место у интактных животных, здесь отсутствует. То есть, температура в головном мозге у животных, которым до начала гипертермии ингибировали активность синтаз оксида азота, одновременно с началом гипертермии, начинает плавно и непрерывно нарастать и так длится до завершения опыта, т.е. до гибели животного, которая обычно во всех наших экспериментальных группах наступала при достижении в головном мозге температуры в диапазоне 40-41°C.

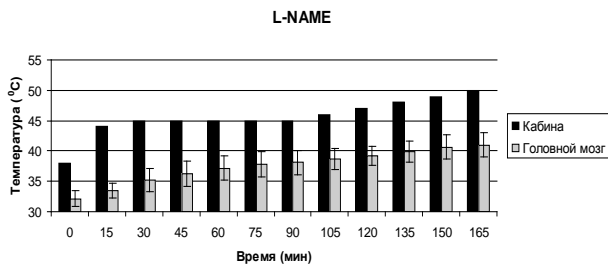


Рис. 3. Данные по изменению температуры в гипертермической кабине и в ткани головного мозга у животных, которым до начала гипертермической экспозиции интраперитонеально вводили L-NAME (50 мг/кг)

Что же касается динамики изменения ректальной температуры, во всех использованных экспериментальных условиях статистическая обработка проведенных измерений показала, что достоверная разница между показаниями при различных экспериментальных условиях наблюдается лишь на коротких временных участках гипертермической экспозиции и они не носят какой-либо закономерный характер. Как уже отмечалось в методической части, специальная серия опытов была проведена по определению изменений индекса агрегации эритроцитов в результате гипертермической экспозиции на интактных и L-NAME-введенных животных. Результаты проведенных измерений представлены в таблице, которая показывает средние статистические значения индекса агрегации эритроцитов в условиях нормальной (комнатной) температуры (21-23°C), а также при 40, 43 и 45°C.

Базисные механизмы, лежащие в основе регуляции температуры тела у человека и животных, всегда находились в центре внимания ученых и следует отметить, что в данной области был достигнут значительный прогресс, как в условиях нормы, так и патологии [6,9,11,21]. Однако, существенно другая картина предстает, если рассмотреть вопрос регуляции температуры головного мозга не только при внешних, но и при внутренних воздействиях, связанных с изменениями температуры при функционально индуцированных различных уровнях активности головного мозга [20].

Имеются данные, что направленность изменения температуры в головном мозге у кошки при зрительной стимуляции зависит от частоты мигания света – при низких частотах температура повышается, а при высо-

ких - снижается [12]. Установлено, что при нормальных физиологических условиях температура в глубинных структурах головного мозга выше, чем температура артериальной крови, а ближе к поверхности ввиду обмена температурой с окружающей средой – ситуация диаметрально противоположная [16,19,23]. Считается, что количественно это явление регулируется температурозащитным эффектом кровотока, который предохраняет глубинные структуры головного мозга от проникновения «экстракраниального холода» [19].

Как показывают описанные выше результаты проведенных исследований, головной мозг располагает достаточно эффективной системой терморегуляции и в условиях резкого повышения температуры окружающей среды. Согласно нашим данным, для белых крыс верхним пределом температурной ауторегуляции является 45°C окружающей среды. Дальнейшее повышение температуры в гипертермической кабине выше 45°C приводит к нарушению этой ауторегуляции в ткани головного мозга, в результате чего температура в головном мозгу растет в линейной зависимости от температуры в кабине и при достижении 40-41°C животное погибает. Авторы статьи согласны с мнением Zhu M. et al. [24], которые в своей работе заключают, что глубина температурного экранирования головного мозга в решающей степени зависит от мозгового кровотока. Об этом наглядно свидетельствуют полученные нами данные, согласно которым предварительное (за 15 минут до гипертермического воздействия) введение L-NAME (50 мг/кг) неселективного ингибитора синтаз оксида азота полностью нарушает ауторегуляцию температуры в ткани головного мозга и ее динамика с самого начала гипертермической экспозиции линейно следует за изменениями температуры в кабине. Понятно, что резкое уменьшение синтеза оксида азота (если не полная его блокада) приводит к такому же резкому уменьшению кровотока и повышению системного артериального давления (примерно на 60%) [5]. Известно, что эндотелиальная синтаза оксида азота в норме регулирует базальный сосудистый тонус [14]. Установлено и то, что оксид азота вовлечен и в осуществление нейрогенной терморегуляторной вазодилатации в ответ на повышение температуры тела [22]. Кроме того оказалось, что L-NAME ингибирует и норэпинефрин-индуцированное усиление кровотока в коричневой адипозной ткани в главном термогенном органе [18]. Все вышеизложенное подтверждает, что оксид азота является важнейшим

Таблица. Средние статистические значения и стандартные ошибки индекса агрегации эритроцитов (в условных единицах), полученные в условиях нормы и общей гипертермии

Температура (°C) в кабине	Группа интактных	Группа с L-NAME
Комнатная (21-23)	1,3±0,1	1,75±0,15
40	30,1±2,1	9,48±0,2
43	33,2±1,8	10,4±0,18
45	40,1±3,5	15,8±0,2

компонентом в системе терморегуляции не только головного мозга, но и всего организма в целом.

Интенсивность кровообращения, а, следовательно, и степень поддержания температурного гомеостаза, в значительной степени зависит от реологических свойств крови, одним из важнейших показателей которого является индекс агрегации эритроцитов. Вместе с тем, сам этот показатель является чрезвычайно термозависимым [8], что, в основном, обусловлено влиянием температуры на вязкость плазмы, степенью межэритроцитарного взаимодействия, способствующего их агрегации [17]. Исходя из того, что данное исследование было проведено на крысах, необходимо подчеркнуть, что индекс агрегации эритроцитов в значительной степени варьирует между видами позвоночных [7] и наиболее низким является именно у крыс, у которых тенденция агрегируемости эритроцитов является очень слабо выраженной [3]. Имеются веские основания утверждать, что оксид азота играет значимую роль и в регуляции реологических свойств крови, в частности в явлении агрегации эритроцитов, и нарушения этой регуляции является одним из факторов обуславливающих развитие L-NAME-индуцированной гипертензии [3]. Полагают, что индуцированное оксидом азота уменьшение агрегируемости эритроцитов является результатом прямого действия оксида азота на эритроциты, что считают достаточным основанием для использования доноров оксида азота для улучшения текучести крови [15]. Однако следует подчеркнуть, что сказанное относится лишь к оксиду азота, продуцированного в результате активации конституциональных форм NOS, в основном, эндотелиального (eNOS).

Еще в 1987 году Maeda N. и соавт. [10] показали, что при увеличении температуры (был использован диапазон от 5 до 43°C) скорость фибриногеном-индуцированной агрегации эритроцитов возрастает. Как свидетельствуют данные, приведенные в таблице и экспериментальные данные, повышение температуры в гипертермической кабине приводит к существенному, многократному повышению индекса агрегации эритроцитов у крыс, у которых этот показатель в отличие от других позвоночных, как уже отмечалось, в норме является, видимо, самым низким [3]. На фоне ингибирования синтеза оксида азота (посредством L-NAME) при гипертермии нами зарегистрировано (таблица) статистически достоверное ($p < 0,05$) снижение индекса агрегации эритроцитов при всех использованных температурных режимах гипертермии. Не входит ли это в противоречие со сказанным выше касательно эффекта оксида азота на агрегируемость эритроцитов? Полагаем, что нет и вот почему: хорошо известно, что гипертермия стимулирует избыточную генерацию оксида азота, так как вызывает значительную активацию не только конституциональных изоформ синтазы оксида азота, но и ее индуцибельной изоформы (iNOS) [2] с резкой

интенсификацией свободнорадикальных процессов с образованием пероксинитрита. Наряду с этим, также резко повышается и ксантиноксидазное генерирование реактивных форм кислорода [3]. Указанные явления, прежде всего, оказывают влияние на процесс агрегации эритроцитов. Свободнорадикальная атака приводит к повреждению не только мембраны эритроцитов, но и их цитоплазматической структуры, что вызывает нарастание индекса их агрегации, повышение прочности самих агрегатов и, соответственно, существенное нарастание скорости сдвига, необходимой для их дисагрегации [3]. В результате этого повышается вязкость крови, ухудшается ее текучесть, что еще больше способствует агрегации и такое лавинообразное развитие процессов приводит к тромбированию сосудов. Именно такой результат и является одним из целевых назначений использования метода локальной гипертермии при экспозиции опухолевой ткани в онкологической клинике, однако этот вопрос требует отдельного рассмотрения и анализа.

Вышеизложенное позволяет заключить, что неселективное ингибирование всех изоформ оксида азота посредством введения L-NAME на фоне гипертермии, приводит к снижению индекса агрегации эритроцитов.

Основываясь на результатах проведенных экспериментов следует заключить:

1. Головной мозг обеспечен высокоэффективной системой ауторегуляции температуры при экзогенных температурных воздействиях.
2. Верхний предел этой ауторегуляции (для крыс, по крайней мере) находится в пределах 45°C окружающей среды.
3. Значимую роль в нормальном функционировании системы ауторегуляции температуры в головном мозге играет оксид азота.
4. Поведенческие нарушения, выявляемые у животных, после общей гипертермии (в пределах температурной ауторегуляции головного мозга) вряд ли связаны с температурными изменениями в центральной нервной системе, а скорее всего опосредованы нарушениями в качестве крово- и кислородоснабжения ткани головного мозга, вызванными резкими ухудшениями реологических свойств крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сысков А.М. Программно-аппаратный комплекс для исследования функциональных процессов головного мозга методами СВЧ радиотермографии. Автореферат диссертации. Екатеринбург: 2012.
2. Arnaud C., Godin-Ribuot D., Bottary S., Peinnequin A., Joyeux M., Demenge P., Ribout C. iNOS is a mediator of the heat stress-induced preconditioning against myocardial infarction in vivo in the rat. Cardiovascular research 2003; 58: 118-125.

3. Baskurt Oguz K., Robert A. Farley, Herbert J. Meiselman. Erythrocyte aggregation tendency and cellular properties in horse, human, and rat: a comparative study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1997; 273: H2604 - H2612.

4. Bicher H.I, Mitagvaria N.P., Nebieridze M.I. The role of local blood flow intensity, blood rheological properties and free radicals in development of local hyperthermia-induced morphological changes in cerebral tissue of the rat. Bicher Cancer Institute. 2010, Los Angeles, CA, USA. <http://www.bichercancerinstitute.com/Papers/>.

5. Bor-Kucukatay M., Yalcin Ö., Gökalp O., Kipmen-Korgun D., Yesilkaya A., Baykal A., Ispir M., Senturk Ü.K., Kaputlu I., Baskurt O.K. Clinical Hemorheology and Microcirculation, 2000, 22, 267-275.

6. Hicks C., Ramos L., Reekie T., Misagh G.H., Narlawar R., Kassiou M., McGregor I.S. Body temperature and cardiac changes induced by peripherally administered oxytocin, vasopressin and the non-peptide oxytocin receptor agonist WAY 267,464: a biotelemetry study in rats. *Br J Pharmacol.* 2014; 171(11): 2868–2887.

7. Kilic-Toprak Emine, Fusun Ardic, Gulden Erken, Fatma Unver-Kocak, Vural Kucukatay, Melek Bor-Kucukatay. Hemorheological responses to progressive resistance exercise training in healthy young males. *Med Sci Monit.* 2012; 18 (6): CR351–CR360.

8. Lim H.J., Lee Y.J., Nam J.H., Chung S., Shin S. Temperature-dependent threshold shear stress of red blood cell aggregation. *J Biomech.* 2010;43: 546-550.

9. Lizarraga Lucina E., Phan Andy V., Cholanians Aram B., Monks Terrence J. Serotonin Reuptake Transporter Deficiency Modulates the Acute Thermoregulatory and Locomotor Activity Response to Methylendioxyamphetamine, and Attenuates Depletions in Serotonin Levels in SERT-KO Rats. *Toxicol Sci.* 2014; 139(2): 421–431.

10. Maeda N., Seike M., Shiga T. Effect of temperature on the velocity of erythrocyte aggregation. *Biochim Biophys Acta* 1987; 904: 319-329.

11. Maier C.M., Steinberg G.K. Hypothermia and Cerebral Ischemia: Mechanisms and Clinical Application 2004; (Humana, Totowa): 188.

12. McElligott J.G., Melzack R. Localized thermal changes evoked in the brain by visual and auditory stimulation. *Exp Neurol.* 1967; 17: 293-312.

13. Mchedlishvili G., Beritashvili N., Lominadze D., Tsiamdzgvrishvili B. Technique for direct and quantitative evaluation of erythrocyte aggregability on blood samples. *Biorheology* 1993; 30(2): 153-161.

14. Muñoz Manuel F., Puebla Mariela, Figueroa Xavier F. Control of the neurovascular coupling by nitric oxide-dependent regulation of astrocytic Ca²⁺ signaling. *Front Cell Neurosci.* 2015; 9: 59.

15. Nagashima T., Ohinata H., Kuroshima A. Involvement of nitric oxide in noradrenaline-induced increase in blood flow through brown adipose tissue. *Life Sci.* 1994; 54: 17-25.

16. Nelson D.A., Nunneley S.A. Brain temperature and limits on transcranial cooling in humans: quantitative

modeling results. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1998; 78: 353-359.

17. Neumann F.J., Schmid-Schonbein H., Ohlenbusch H. Temperature-dependence of red cell aggregation. *Pflugers Arch.* 1987; 408: 524-530.

18. Starzyk D., Korbut R., Gryglewski R.J. Effects of nitric oxide and prostacyclin on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro. *J Physiol Pharmacol.* 1999; 50: 629-37.

19. Sukstanskii A.L., Yablonskiy D.A. An analytical model of temperature regulation in human head. *J Therm Biol.* 2004; 29: 583-587.

20. Sukstanskii Alexander L., Dmitriy A. Yablonskiy Theoretical model of temperature regulation in the brain during changes in functional activity. *PNAS* 2006; 103: 12144-12149.

21. Swan H. Thermoregulation and Bioenergetics. Elsevier, N.Y: 1974.

22. Taylor W.F., Bishop V.S. A role for nitric oxide in active thermoregulatory vasodilation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1993; 264: H1355-H1359.

23. Van Leeuwen G.M., Hand J.W., Lagendijk J.J., Azopardi D.V., Edwards A.D. Numerical modeling of temperature distributions within the neonatal head. *Pediatr Res.* 2000; 48: 351-356.

24. Zhu Mingming, Joseph J. H. Ackerman, Alexander L. Sukstanskii, and Dmitriy A. Yablonskiy. How the body controls brain temperature: the temperature shielding effect of cerebral blood flow. *J Appl Physiol.* 2006;101: 1481-1488.

SUMMARY

THE ROLE OF NITRIC OXIDE AND BLOOD RHEOLOGICAL PROPERTIES IN THE MAINTENANCE OF A TEMPERATURE HOMEOSTASIS IN THE BRAIN TISSUE

Jojua N., Gongadze N., Mitagvariya N.

Tbilisi State Medical University, I. Beritashvili Center for Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia

The problem of temperature regulation in the brain tissue in conditions of whole body hyperthermia was investigated in experiments on white rats. The received results revealed that the brain is provided with a highly efficient system for temperature autoregulation against the changes in environmental temperature. According to our data the upper limit of this autoregulation (for rats, at least) is about the 45°C of environmental temperature. The important role in functioning of this autoregulatory system belongs to Nitric Oxide. It is revealed also that the increase in the index of red cells aggregability may significantly hinder (among other things) maintaining of the temperature homeostasis in the brain.

Keywords: temperature, brain tissue, nitric oxide, blood rheology.

РЕЗЮМЕ

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА И РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ В ПОДДЕРЖАНИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА В ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Джоджуа Н.Н., Гонгадзе Н.В., Митагвария Н.П.

Тбилисский государственный медицинский университет, Центр экспериментальной биомедицины им. И. Берташвили, Грузия

В экспериментах на белых крысах линии Вистар массой 200-250 г. исследуется проблема регуляции температуры в ткани головного мозга в условиях управляемой гипертермии всего тела. Полученные результаты позволяют утверждать, что головной мозг обеспечен высокоэффективной системой ауторегуляции температуры при экзогенных температурных воздействиях. Верхний предел этой ауторегуляции (для крыс, по крайней мере) находится в пределах 45°C окружающей среды. Значимую роль в нормальном функционировании системы ауторегуляции температуры в головном мозге играет оксид азота. Кроме того, выявлено, что повышение индекса агрегируемости эритроцитов может существенно сказаться (помимо всего прочего) и на поддержании температурного гомеостаза в головном мозге.

რეზიუმე

აზოტის ოქსიდის და სისხლის რეოლოგიური თვისებების როლი თავის ტვინის ქსოვილის ტემპერატურული ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში

ნ. ჯოჯუა, ნ. გონგაძე, ნ. მითაგვარია

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, საქართველო

ნაშრომში შესწავლილია თეთრი ვირთაგვების თავის ტვინის ქსოვილში ტემპერატურის რეგულაციის საკითხი სხეულის ჰიპერთერმიის პირობებში. მიღებული შედეგებით დადგენილია, რომ თავის ტვინი უზრუნველყოფილია ტემპერატურის ავტორეგულაციის ეფექტური სისტემით, რომელიც იცავს მას ეგზოგენური ტემპერატურული ცვლილებებისაგან. ამ ავტორეგულაციის ზედა ზღვარი (ვირთაგვებისთვის) განისაზღვრება გარემოს ტემპერატურის დაახლოებით 45°C-ით. თავის ტვინის ტემპერატურის ავტორეგულაციის სისტემის ნორმალურ ფუნქციონებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს აზოტის ოქსიდი. ასევე, დადგენილია, რომ ერითროციტების აგრეგაციის ინდექსის ზრდამ შესაძლოა, სხვათაგან ერთად, მნიშვნელოვნად შეაფერხოს თავის ტვინში ტემპერატურული ჰომეოსტაზის შენარჩუნება.

STRUCTURAL CHANGES IN SUBMANDIBULAR SALIVARY GLAND, CAUSED BY HEAVY METAL SALTS, AND THEIR CORRECTION WITH DIALIPON (EXPERIMENTAL STUDY)

¹Sikora V., ¹Bojko V., ¹Tkach G., ²Kyptenko L., ²Lyndin M.

¹Sumy State University, normal anatomy department with a topographical anatomy and operational surgery course; ²department of pathology, Ukraine

Salivary glands play a considerable role the vital functions of an organism. They provide homeostasis constancy not only of an oral cavity but also of top departments of gastrointestinal tract, executing primary enzymatic food processing, helping the food passing through a gullet. Presumably there are no other organs, that would carry out such a variety of functions (secretory, recretory, excretory, incretory) and would have so much influence to the organism condition, organs of oral cavity and digestive system on the whole, as salivary glands [1].

Frequency of large salivary glands disease in the structure of general pathology is about 0,6-1,5%. Sialolithiasis takes

about 20 - 60%, here the process strikes submandibular salivary gland (SSG) more often (91-95,4%). Men and women can be ill approximately identically. The pathology appears at any age, even from a babyhood [2]. Frequency of tumor development in SSG is not high (4%). Sexual differences in morbidity demonstrate greater frequency of tumour development for men (correlation of men and women - 2,5: 1). Neoplasia is diagnosed between men at age 28-60 (average 42,6), between women at age 40-59 (average 47) [3].

The factors that promote development of disease are: violation of mineral exchange, hipo- and avitaminosis

A, violation of saliva electrolyte composition, violation of enzymatic activity, decline of salivary gland secretory activity, which is followed by saliva condensing, violation of saliva formation with its speed secretion decline, changes in anatomic structure of the gland flowing system, acute and chronic inflammatory processes (chronic sialoadenitis and sialodochitis) etc [4].

However, one of the most essential risk factors of gland disease is a permanent increase of socialdemographic process, which is characterized by increasing number of urban population, growth of chemical and electroenergetic industry, usage of mineral fertilizers, containing metals pesticides, emission of industrial waste in different actual states (hard, liquid, gas and vaporous) and exhaust, low technological level at industrial enterprises [5]. It creates continuous influence of ecosystem on living organisms [6]. As a result, in some regions there are groups of elements that are not natural, and characteristic for the technogenesis [7]. While adapting oneself to the new conditions, protection mechanisms turn on, they can resist to harmful influence of aggressive factors during a certain time [8]. But further there is an exhaustion of reserves, that results in adaptation failure adapting mechanisms are transformed into pathological ones, which affect first at cell and biochemical levels, and eventually become the reason of morphological changes at organ level [9].

Nowadays, heavy metals are basic pollutants of environment, their level exceeds allowable norms in many regions of Ukraine and the world [7]. Increasing content of ions of copper, zinc, iron, manganese, chrome and lead in soil is observed in northern districts of Sumy region. Their concentration exceeds allowable one in 10-100 times [10].

The scientists all over the world pay great value to studying of heavy metals influence to a human's organism and laboratory animals. It is reflected in many works, majority of which specifies negative influence of metals on organs and systems of human organism [11]. The mechanism of heavy metals combination influence consists of a local and resorbative effects [12]. The local effect is shown in tissues destruction and depends on the capacity of these combinations for dissociation. Thus as a result of proteins compression and denaturation, dystrophic and necrotizing changes in tissue are observed. The cornerstone of the resorbative effect is blocking of functionally active enzyme groups and structural proteins [13].

There is a number of works in literature which study structural alteration of bones [14], testicles [15], thyroid gland [16], dental enamel [17] on condition of natural and technogenic microelementosis, but there are no scientific works that would light up the complex study of salivary glands morphological changes on condition of combined influence of several microelements.

So, the purpose of our investigation is studying of morphological changes in submandibular salivary gland of animals on condition of heavy metals salts effect and research of correcting influence of medicinal drug Dialipone to structural changes in submandibular salivary gland.

Material and methods. We conducted an experiment at 90 white male-rats of young, mature and advanced age.

All experiments are conducted following the rules of European Convention of Animals Protection [18,19].

Taking into account well-marked antioxidant properties of aliphatic acid, we chose a pharmacological drug "Dialipone" to correct structural alteration in submandibular salivary gland, caused by microelementosis.

Rats were divided in 2 groups control one and experimental one. There were 18 rats of different age in a control group. The rats got normal drinking-water and food according to standard daily rate.

There were 72 rats of young, mature and old age (from 4th to 22th months) in experimental group. This group of rats was divided into 2 groups of 36 animals. The first group drank water with heavy metals salts in concentrations, that are determined in soil and water of some districts of Sumy region (salts of zinc ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5 $\mu g/l$ /l, copper ($CuSO_4$ of $x 5H_2O$) - 5 $\mu g/l$ /l, iron ($FeSO_4$) - 10 $\mu g/l$ /l, lead ($Pb(NO_3)_2$) - 3 $\mu g/l$, manganese ($MnCl_2$ of $x 4H_2O$) – 1 $\mu g/l$ /l) [10]. The correction was conducted by Dialipone. The second group drank water with heavy metals salts without any corrector. The first group of animals was divided into 2 subgroups: first one consisted of rats that were taken out of experiment in 1 month; the second subgroup was the animals that received heavy metals salts and the corrector during two months. The second group was divided also into 2 subgroups on the same principle.

The corrector "Dialipone" was slowly injected in an abdominal region once a day in a dose of 60 μg to 1 kg of body weight.

Animals were taken out of the experiment by means of decapitation under aethereal anesthesia.

A part of submandibular salivary gland was taken for the histological research. It was fixed in 10% solution of neutral formalin (during 24 hours). Serial cuts were executed about 7-9 μm each, that passed through a center, subcapsularis and intermediate areas of a gland. Preparations were painted over with a standard methods.

Prepared histological preparations were investigated and photographed by means of the digital image display system "SEO Scan ICX 285 AK-F IEE-1394».

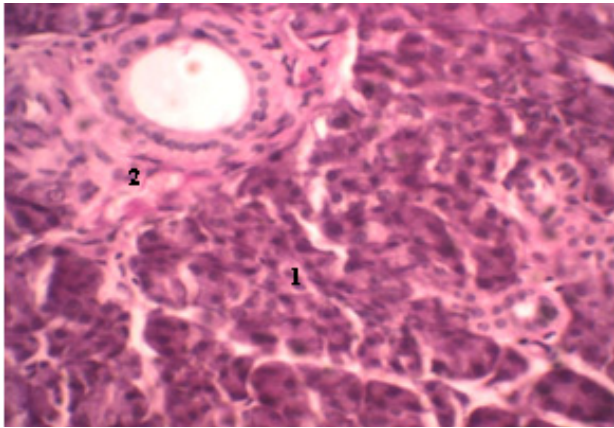
Microsoft Excel 2010 with addition AtteStat 12.0 was used during a statistical research (determination of normal selection by Kolmogorov criterion, calculation of Student independent criterion, Pierson's correlation coefficient - r and reliability of differences - p).

Results and their discussion. After 30 days of combination influence of heavy metals salts and the corrector drug in submandibular salivary gland of young rats one can observe considerably less deviations in linear size and architectonics of gland particles, comparing to the results of control group of animals. During the PAS reaction in gland tissue one can observe intensification of color saturation in epithelial cells, epithelium of the implanted and striated ducts, comparing to the corresponding group of rats that had combination of heavy metals salts only (Fig. 1).

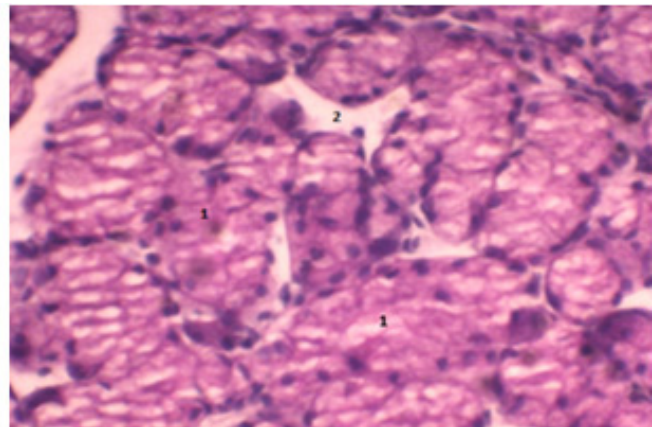
There is an insignificant divergence of collagen fiber, minimum signs of swelling in the capsule and interacinar layers of gland connective tissue. Blood vessels of the capsule are expanded, with increased blood filling, located more compact, compared to the group of microelementosis influence, where in interacinar stroma one can often observe the signs of swelling in the form of cavities.

There is insignificant growth of connective tissue around ducts and in periacinar area in both groups.

After 60-day's experiment with Dialipone in submandibular salivary gland of young rats one can observe insignificant damage of glandular parenchima cells, that showed up in form of small focuses of fatty and albuminous proteinaeous degeneration. Animals of this group, compared to the second group (2 subgroup) of animals of young age,



A

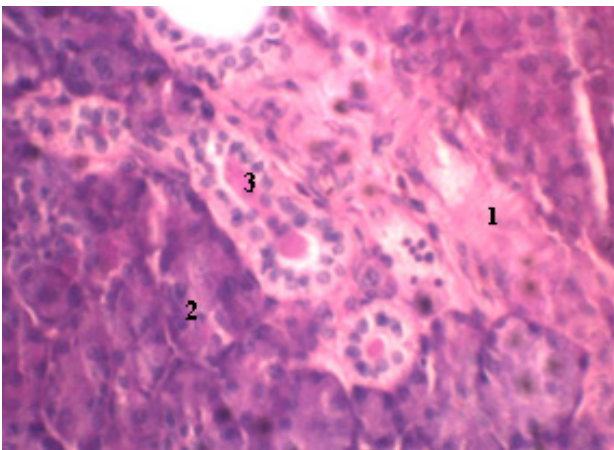


B

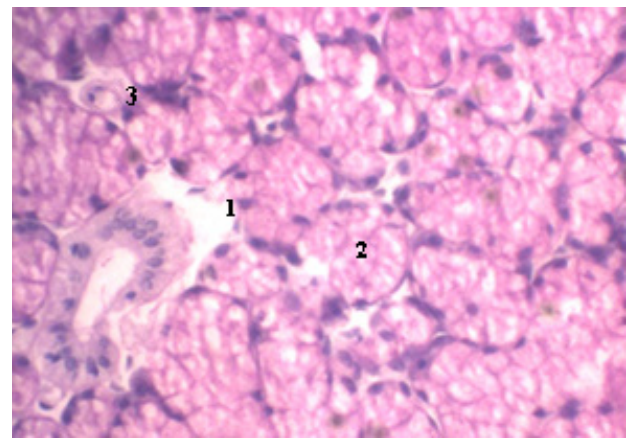
Fig. 1. Submandibular salivary gland of a young rat after 30 days of simulated microelementosis (A) and after 30 days of microelementosis with corrector usage (B). Zoom x 360. Painted over with hematoxylin- eosine.

A: 1 – epithelium of glands with PAS-positive formations.

B: 1 – epithelium of glands with PAS-positive formations, 2 – swallowing



A



B

Fig. 2. Submandibular salivary gland of a young rat after 60 days of microelementosis (A) and after 60 days of microelementosis with corrector (B). Zoom x 360. Painted over with hematoxylin- eosine. A: 1 – growth of connective tissue, 2 – epithelium of a duct and particles, 3 – interdict secretion. B: 1 –swallowing, 2 – epithelium of a duct and particles with insignificant quantity of carbohydrate formations, 3 - hemocapillaries

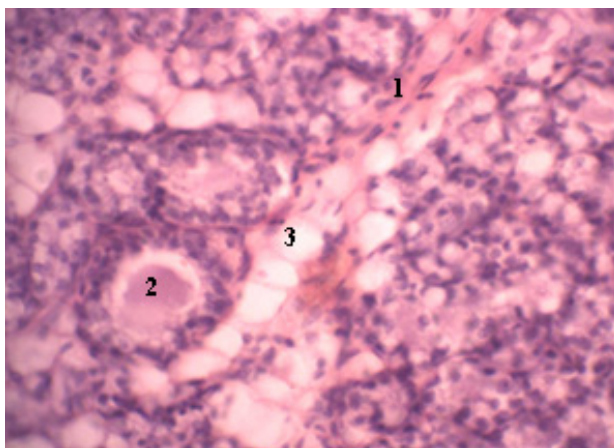
had less distinct dyscirculatory violations. There are signs of swallowing, dilatation and hemocapillar wall bulge in the stroma component (Fig. 2). One can also observe some grows of connective tissue around vessels and ducts.

In general, one can observe better saving of glandular epithelium, less prevalence of dystrophic and discirculatory changes, sclerotization processes in stroma, comparatively to the histological research results of submandibular salivary gland tissue of young animals without the microelementosis influence correction.

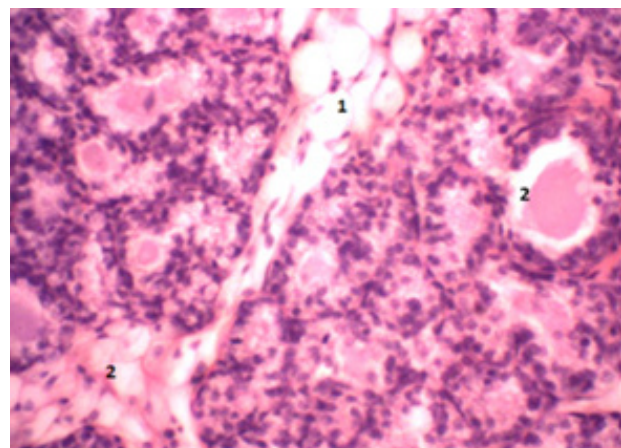
After 30-days joint use of heavy metals salts combination and the corrector there is insignificant amount of cells with fatty and hydropic degeneration in submandibular salivary gland of mature rats. There is a secretion delay, desquamation of some cells (Fig. 3) in gland duct system. Comparing to the group of animals of corresponding age,

which had microelementosis without any corrector, there is more parenchima with signs of glandular epithelium stable functioning, but there is less stroma component. One can observe moderate hemocapillar dilatation, venous congestion, insignificant perivascular stroma swallowing.

After 60-days of correction with Dialopine in submandibular salivary gland of rats of mature age one can observe a tendency to damaged tissue area reduction comparing to the group of animals of corresponding age without corrector use. There are dystrophic changes in some terminal parts. There are some desquamated cells and insignificant secretion accumulation in implanted and striated ducts of the gland. One can observe a phenomenon of implanted ducts branching as a sign of strengthening of regeneration process in submandibular salivary gland. Connective tissue grows mostly perivascular and periductal, interparticle partitions broaden. There is a venous congestion in some small vessels (Fig. 4).

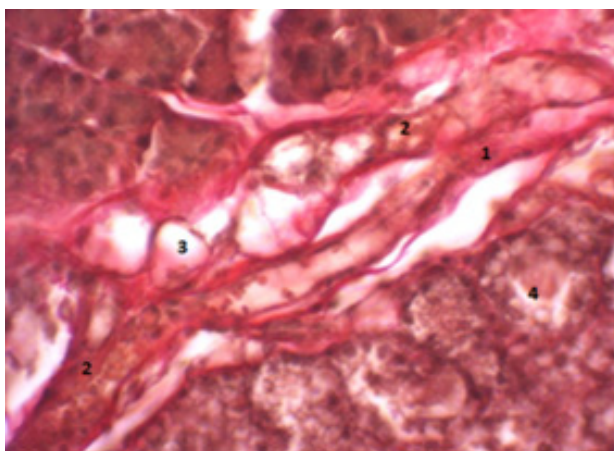


A

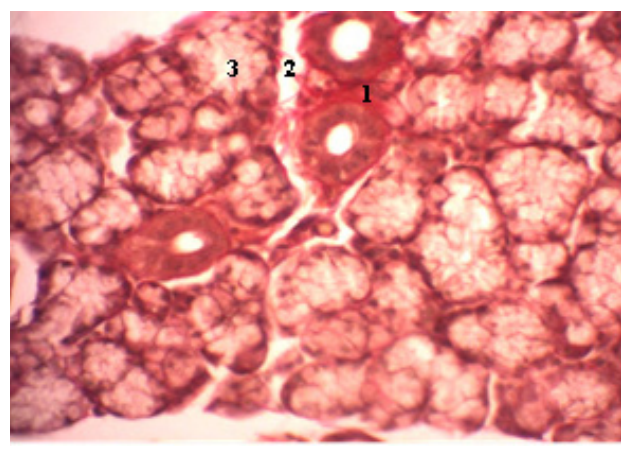


B

Fig. 3. Submandibular salivary gland of a mature rat after 30 days of microelementosis (A) and after 30 days of microelementosis with corrector (B). Zoom x 400. Painted over with hematoxylin- eosine. A: 1 – connective tissue, 2 – intraparticle duct with secretion, 3 – fatty tissue. B: 1 – epithelium of hybrid acinus with areas of stroma fatty degeneration, 2 – secretion retardation in duct clearance

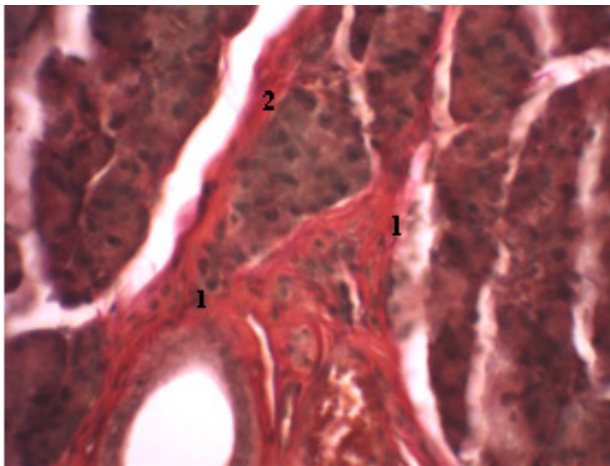


A

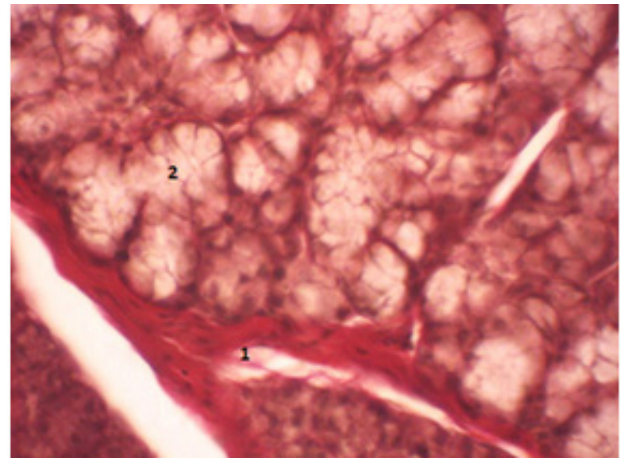


B

Fig. 4. Submandibular salivary gland of a mature rat after 60 days of microelementosis (A) and after 60 days of microelementosis with corrector (B). Painted over due to Van-Gizon. Zoom x 400. A: 1 – smooth fibrous connective tissue, 2 – hemocapillaries, 3 – adipocytes, 4 – interaduct with secretion. B: 1 – periductal fibrosis, 2 – swallowing, 3 – acinus with degenerative changes

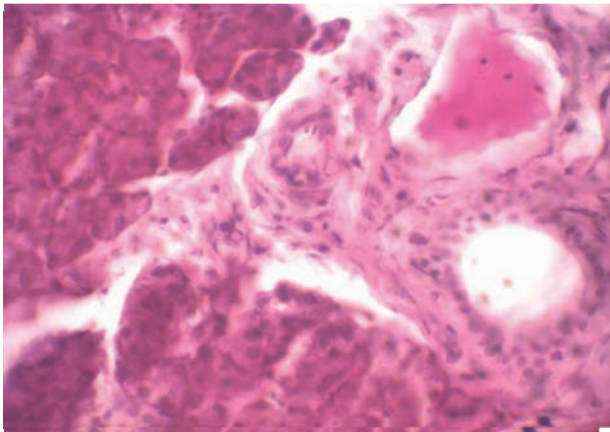


A

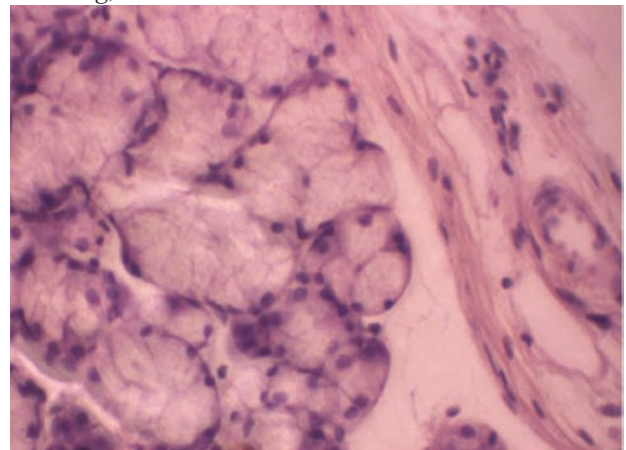


B

*Fig. 5. Submandibular salivary gland of a senior rat after 30 days of simulated microelementosis (A) and after 30 days of microelementosis with corrector usage (B). Painted over due to Van-Gizon. Zoom × 400.
A: 1 – periductal, perivascular and ma periacinar connective tissue, 2 – swallowing.
B: 1 – intraparticle connective tissue with swallowing, 2 – mucous terminal sections*



A



B

*Fig. 6. Submandibular salivary gland of a senior rat after 60 days of microelementosis (A) and after 60 days of microelementosis with corrector usage (B). Zoom × 400. Painted over with hematoxylin- eosine.
A: 1 – acinus epithelium, 2 – periductal fibrosis, 3 – dilatation the duct clearance with secretion reservation.
B: 1– swallowing, 2 – degenerative changes in duct epithelium*

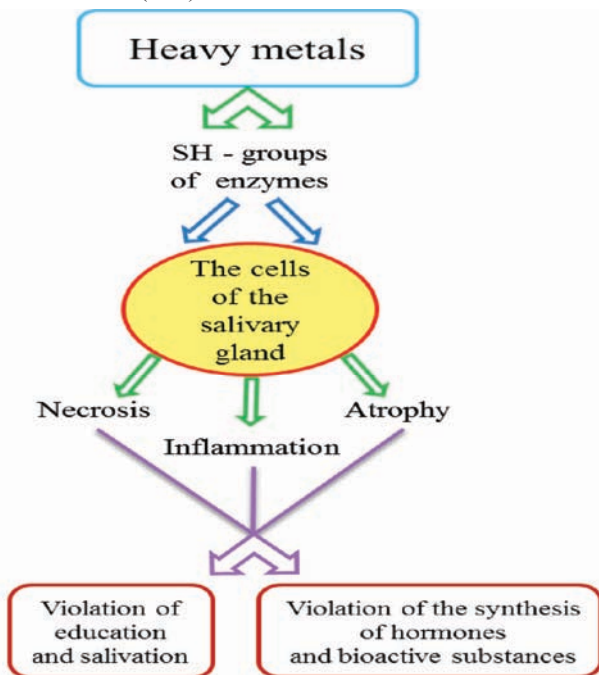
After 30 days' of concurrent taking of heavy metals salts combination and corrector in submandibular salivary gland of senior rats one can observe structure heterogeneity of parenchima: there are some fatty and hydropic degenerations among acinus with kept structure. Mucous terminal parts of glands that prevail in parenchima structure are separated by connective tissue layers with some signs of swallowing (Fig. 5). Comparing to the group of senior rats, which had microelementosis and did not take Dialipone, one can observe the reduction of swallowing, fibrosis changes, dystrophic and atrophic transformations of parenchima.

After 60-days of correction with Dialopine in submandibular salivary gland of old rats one can observe tissue swallowing, granulocyte centers with dystrophic changes. Sometimes glandular cells contain signs of apoptosis. In

general, the area of gland parenchima component diminishes due to atrophic and involutory process. There is an expansion of connective tissue component: interparticle membranes and capsule the amount of connective tissue component grows around large vessels, ducts (Fig. 6). Comparing histological changes to the group of senior animals, which did not take the corrector, one should notice less distributive dystrophic, atrophic and dycirculatory changes.

Without doubts, influence of environment harmful factors, including heavy metals salts, results in structural changes in submandibular salivary gland that leads to to progress of diseases. The inflow of heavy metals in the organ results in substituting of essential macro- and microelements in a cell [20], blocking of active functional groups of enzymes, proteins [21]. The most important is blocking of sulfhydryl

and thiol groups that provide biological activity to over 50% enzyme proteins; amine, carboxyl and other groups are blocked less (Pic.).



Pic. The pathogenesis of the influence of heavy metals in the salivary gland

Thus, experimental animals in the conditions of simulated microelementosis have signs of granulocyte dystrophic and atrophic changes. Coarse-fibred stroma, capilar sclerosis, hemorrhages are observed. During the processes of Dialipone corrective influence, damage of submandibular salivary gland tissue diminished. The swallowing and fibrotic changes were less expressed, as well as dystrophic and atrophic parenchyma transformations.

Except impressive antioxidant properties, the drug has membrane stabilizing, antihypoxic, detoxification effects and activates damaged tissue regeneration.

Conclusions. Research of Dialipone corrective influence on structural changes in submandibular salivary gland of rats of the different age, caused by microelementosis, confirms perspective of the drug application. While comparing restoration possibilities of Dialipone for the gland tissue it was noticed that animals of different ages have got different efficiency of application the corrector.

The rats of young and mature age have got more complete renewal of structural changes. The rats of senior age have got less complete and effective renewal of structure, than young animals, which is explained by worse reparative possibilities for old rats.

REFERENCES

1. Афанасьев В.В., Слюнные железы. Болезни и травмы: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР – Медиа; 2012: 296.
2. Мохаммад М.М., Гунько В.И., Современный взгляд на заболевание слюнных желез. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке» 2009; 11(4): 322-324.
3. Лобейко В.В., Иорданишвили А.К., Характеристика диагностических и лечебных мероприятий среди взрослых людей разного возраста, страдающих заболеваниями слюнных желез. Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье" 2014; 1: 81-84.
4. Денисов А.Б. Слюна и слюнные железы. М.: Изд-во РАМН; 2006: 372.
5. Trakhtenberg IM, Shestopalov VM, Naboka MV, Bobyleva OA. Lead and other heavy metals in the environment after the Chernobyl catastrophe (to the ecological situation in Ukraine). Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal 1998; 3:948.
6. Трахтенберг И.М., Тычинин В.А. Проблема кардиовазотоксического действия экзогенных химических веществ. Український кардіологічний журнал 2003; 5: 108-113.
7. Вашкулат Н.П., Пальгов В.И., Спектор Д.Р. Установление уровней содержания тяжелых металлов в почвах Украины. Довкілля та здоров'я 2002; 2: 44-47.
8. Жолдакова З.И., Харчевникова Н.В. Механизмы процессов биоактивации чужеродных химических веществ под воздействием ферментных систем организма. Вестник Российской академии медицинских наук 2002; 8: 44-50.
9. Головка Л.Л. Стан захисних систем організму за умов поєднаної дії солей кадмію і свинцю та нітриту натрію. Медична хімія 2004;6(3): 176.
10. Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2006 році. Суми: Видавництво «Джерело»: 2007; 8-21.
11. Myers E.N., Ferris R.L. Salivary gland disorders. Springer: 2007; 517.
12. Скальный А.В. Биэлементы в медицине. Микроэлементы в медицине 2003; 4(1): 7-11.
13. Плетнёва Т.В., Байкова В.Н., Бархударов Р.М. и др. Токсикологическая химия. Практикум., под ред. Т. В. Плетёновой. М.: Эксмо; 2008: 528.
14. Кияненко Д.О. Гістоморфометричні особливості реакції довгих кісток скелета в умовах споживання солей важких металів. Актуальні питання теоретичної медицини. Актуальні питання клінічної медицини. Клінічні та патогенетичні аспекти мікроелементозів: матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, Суми, 20-22 квітня 2011 року. Відп. за вип. Л.Н. Приступа. Суми: СумДУ; 2011: Ч.1: 33.

15. Москаленко Ю.В. Морфологічний гомеостаз сім'яників щурів у ранньому постнатальному онтогенезі в умовах впливу солей важких металів. Актуальні питання теоретичної медицини: матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів. м. Суми, 10-12 квітня 2012 р. Відп. за вип. Л.Н. Приступа. Суми: СумДУ; 2012: 25.
16. Москаленко Р.А. Морфогенез щитоподібної залози в умовах модельованого мікроелементозу та корекції його впливу глутаргіном. Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина 2010; 1: 27-36.
17. Романюк А.М., Кузенко Є.В. Мікроскопічні зміни емалі щурів різного віку в умовах модельованого мікроелементозу. Актуальні питання клінічної медицини. Актуальні питання теоретичної медицини: матеріали міжнародних науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, присвячених Дню науки України, 23-24 квітня 2009 р., Сумської обласної нефрологічної конференції, присвяченої Дню нирки, 20 березня 2009 р. Суми: СумДУ; 2009: 188.
18. Кожемякін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. К.: Авіцена; 2002: 319.
19. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg: 1986; 123: 52.
20. Погорелов М.В., Бумейстер В.І., Ткач Г.Ф., Сікора В.З. та ін. Макро- та мікроелементи (обмін, патологія та методи визначення): монографія. Суми: Вид-во СумДУ; 2010; 147.
21. Курляндский Б.А., Филова В.А. Общая токсикология. М.: Медицина; 2002: 608.

SUMMARY

STRUCTURAL CHANGES IN SUBMANDIBULAR SALIVARY GLAND, CAUSED BY HEAVY METAL SALTS, AND THEIR CORRECTION WITH DIALIPON (EXPERIMENTAL STUDY)

¹Sikora V., ¹Bojko V., ¹Tkach G.,
²Kyptenko L., ²Lyndin M.

¹Sumy State University, normal anatomy department with a topographical anatomy and operational surgery course;
²department of pathology, Ukraine

Setting of possibilities of structural changes correction in submandibular salivary gland with a Dialipone drug, caused by adverse effect of heavy metals salts on an organisms of different age group rats.

Structural changes and their correction were studied on the histological preparations basis painted by hematoxy-

lin-eozin, Van-Gizon, PAS reaction, investigated and photographed by means of the digital image display system "SEO Scan".

In comparison to the results of submandibular salivary gland tissue histological research of animals without any correction of microelementosis, animals that took Dialipone are marked with a better glandular epithelium saving, less widespreading of dystrophic and dyscirculatory changes, sclerotization processes in stroma.

When comparing of Dialipone restoration possibilities, it was set, that different age group animals show different application efficiency of the corrector. The rats of young and mature age have more complete renewal of structural changes. The rats of advanced age show worse reparative capabilities, less complete and effective renewal of structural changes.

Keywords: salivary gland, heavy metals, corrector.

РЕЗЮМЕ

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОДНИЖНЕЧЕЛЮСТНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЕ, ВЫЗВАННЫЕ СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ, И ИХ КОРРЕКЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ДИАЛИПОНА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Сикора В.З., Бойко В.А., Ткач Г.Ф.,
Киптенко Л.Н., Линдин Н.С.

Сумской государственной университет, Украина

Целью исследования явилось установление возможности коррекции препаратом диалипон структурных изменений в поднижнечелюстной слюнной железе, которые вызваны вредным воздействием солей тяжелых металлов на организм крыс разных возрастных периодов.

Структурные изменения и их коррекция изучены на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, шик-реакцией, которые исследовали и фотографировали с помощью цифровой системы вывода изображения «SEO Scan».

По сравнению с результатами гистологического исследования ткани поднижнечелюстной слюнной железы животных без коррекции под влиянием микроэлементоза у животных, получавших диалипон, отмечается большая сохранность железистого эпителия, меньшая распространенность дистрофических и дисциркуляторных изменений, процессов склеротизации в строме.

При сравнении восстановительных возможностей диалипона установлено, что у животных разных возрастных групп выявлена различная эффективность

действия корректора. У крыс молодого и зрелого возраста происходит полное восстановление структурных изменений. У крыс старческого возраста выявлены

более низкие репаративные возможности, восстановление структуры менее полное и эффективное, чем у животных младших возрастных групп.

რეზიუმე

პრეპარატ დიალიპონის კორექციული ეფექტი ქვედა ყბისქვეშა სანერწყვე ჯირკვლის სტრუქტურულ ცვლილებებზე მძიმე მეტაბოლების ზემოქმედების პირობებში (ექსპერიმენტული კვლევა)

ვ. სიკორა, ვ. ბოიკო, გ. ტაჩი, ლ. კიპტენკო, ნ. ლინდინი

სუმის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ვირთაგვების ქვედა ყბისქვეშა სანერწყვე ჯირკვალში მძიმე მეტაბოლების ზემოქმედებით გამოწვეული სტრუქტურული ცვლილებების კორექციის შესაძლებლობის დადგენა პრეპარატ დიალიპონით.

პისტოლოგიურმა კვლევამ გამოავლინა, რომ ვირთაგვებს, რომლებიც დებულობდნენ დიალიპონს, აღენიშნა ჯირკვლოვანი ეპითელიუმის შენარჩუნება, სტრომაში დისტროფიული და დისცირკულაციური ცვლილებების და სკლერო-

ზირების პროცესების უმნიშვნელო გავრცელება, იმ ვირთაგვებთან შედარებით, რომელთაც არ მიეწოდებოდა მაკორექტირებელი პრეპარატი. ასევე, ცხოველთა სხვადასხვა ასაკობრივ ჯგუფში გამოვლინდა კორექტორ დიალიპონის არაერთგვაროვანი ეფექტი, კერძოდ, ახალგაზრდა და ზრდასრულ ვირთაგვებში სტრუქტურული ცვლილებები სრულად აღდგა, ხოლო ასაკოვან ვირთაგვებში გამოვლინდა დაბალი რეპარაციული შესაძლებლობა – სტრუქტურის აღდგენის ხარისხი არასრული და დაბალეფექტურია.

НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЭМБРИОНАЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО МОДУЛЯТОРА МКРТЧЯНА ПУТЕМ АКТИВАЦИИ ЕГО МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА

Агаджанова Е.М.

Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, Армения

Проблема сахарного диабета является одной из основных проблем современной медицины. Несмотря на огромное количество работ, выполняемых в области диабетологии как в эксперименте, так и в клинике, вопрос лечения диабета по сей день не решен. Все существующие методы требуют постоянного введения новых лекарственных препаратов и носят, в основном, симптоматический характер. За последние годы делаются попытки лечения диабета типа 1 путем трансплантации поджелудочной железы или непосредственно островков β -клеток. Однако эти методы далеки от совершенства. Они требуют соответствующего дефицитного материала для трансплантации, хирургическое вмешательство довольно сложное, больному пожизненно назначается прием иммунодепрессантов, что создает определенные проблемы для здоровья. На сегодняшний день в научной литературе появилось множество сообщений относительно использования стволовых

клеток в лечении диабета. Однако все эти работы носят экспериментальный характер [28,29,33].

Начавшаяся по всему миру «эпидемия» диабета диктует необходимость проведения мер профилактики на стадии преддиабета на уровне внедрения государственных программ.

Препарат, пригодный для эффективной борьбы с диабетом, должен отвечать следующим требованиям: 1) оказывать регулирующее действие на определенные патогенетические звенья развития диабета и протекторное воздействие на β -клетки панкреаса; 2) обладать длительным эффектом воздействия; 3) терапевтические дозы препарата не должны длительно кумулироваться в организме; 4) введение препарата больному должно быть технически не сложным, доступным любому медицинскому работнику без специальной подготовки; 5) препарат

не должен быть слишком сложным в производстве и, следовательно, слишком дорогим.

Всеми вышеперечисленными свойствами обладает эмбриональный противоопухолевый модулятор Мкртчяна - ЭПОМ (патент РФ N2240810, Январь 2004 г.) [11], на сегодняшний день успешно зарекомендовавший себя как профилактический противоопухолевый препарат, обладающий также иммуномодулирующими и нейропротекторными свойствами [49]. ЭПОМ испытан на стрептозотоциновой (СТЦ) модели сахарного диабета, являющейся одной из наиболее адекватных. Исследование одобрено Этическим комитетом Ереванского государственного медицинского университета им. М. Гераци (Протокол N9 от 22.05.2014 г.)

Данный обзор носит обобщающий характер и основывается исключительно на результатах, проведенных нами ранее экспериментальных и клинических исследований. Способы введения СТЦ и ЭПОМ лабораторным животным подробно изложены в наших предыдущих исследованиях [1-3,5-8]. Препарат вводили как в профилактическом (предварительное, до СТЦ введение ЭПОМ), так и лечебном (введение ЭПОМ после развития диабета) режиме. Хронологические этапы развития «стрептозотоцинового диабета» и эффективность воздействия ЭПОМ контролировались по уровню глюкозы в крови, а также на основании данных, полученных в ходе морфологических, морфометрических и иммунофлуоресцентных исследований.

Выявлено, что при введении СТЦ уровень глюкозы в крови повышался более, чем в 3,7 раза (до $494,5 \pm 25,3$ мг% при норме $130,0 \pm 8,1$ мг%); введение ЭПОМ в профилактическом режиме в 2,8 раз снижало уровень глюкозы (до $173,0 \pm 11,2$ мг%), тогда как в лечебной группе содержание глюкозы снижалось более, чем в 3 раза, возвращаясь к контрольному фону. Аналогичная динамика наблюдалась в отношении потребления воды и пищи. Что касается веса животных, то введение СТЦ сопровождалось определенной потерей веса. Введение ЭПОМ, наоборот, способствовало прибавлению веса крыс в течение эксперимента [46]. Таким образом, введение ЭПОМ крысам при СТЦ-индуцированном диабете как в профилактическом, так и лечебном режиме оказывало гипогликемическое действие и нормализовало нарушенные исследуемые физиологические показатели.

При СТЦ-индуцированном диабете (СТЦ-ид) наблюдали дисбаланс между системами, образующими свободные радикалы, и системами их элиминирующими, что и приводило к развитию окислительного стресса. Введение ЭПОМ в профилактическом режиме предотвращало развитие окислительного стресса, что в дальнейшем, по всей вероятности, послужит основанием рекомендовать его использование при

различных состояниях, характеризующихся как преддиабет, а также при различных скрытых формах диабета. Что касается лечебного режима введения ЭПОМ, то нормализация показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантного статуса (АОС) также свидетельствует о его положительном влиянии на течение диабета [5].

В литературе имеются данные об использовании антиоксидантов в лечении диабета, однако однозначных результатов о положительном исходе этих исследований по сей день не имеется [23,32], результаты других исследований [19,36] содержат данные противоположного характера. Приведенные авторами экзогенные защитные факторы регулируют не только метаболизм активных форм кислорода (АФК), но и иммунную систему, функционирование которой тесно связано с этим метаболизмом [46]. На сегодняшний день нет оснований судить об ЭПОМ как о веществе, обладающем прямыми антиоксидантными свойствами, однако полученные нами данные свидетельствуют о его опосредованном антиоксидантном действии, благодаря которому, возможно, реализуется его регулирующий эффект на про- и антиоксидантные показатели крови и печени [5].

С этой точки зрения ЭПОМ, реализующий свой эффект путем стимулирования иммунной системы организма [30], может быть эффективным при СТЦ-ид за счет регулирования системы Nox (NADPH oxidase), ответственной за генерацию супероксидного анионрадикала. Установлено, что изоформы Nox локализованы в различных органах и тканях организма, в том числе и в эритроцитарных мембранах (ЭМ) и сыворотке крови (экстрацеллюлярная NADPH оксидаза) [1]. Они активируются только при дестабилизации эритроцитов, что наблюдается при различных заболеваниях [10,12,16]. Nox играют ключевую роль в регуляции клеточного иммунитета и локализованы не только в цитозоле и мембранах клеток, но и в митохондриях и ядрах (селезенка, мозг, печень, и др. органы) [14]. С этой точки зрения положительное действие экзогенных факторов (таким является и ЭПОМ) в какой-то степени должно связываться с изменением активности Nox.

Согласно полученным нами данным [6], при СТЦ-ид в организме происходит увеличение активности Nox не только в клетках селезенки, но и в β -клетках поджелудочной железы крыс, в различных субклеточных образованиях этих клеток на фоне снижения активности антирадикальной защитной системы. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что высвобождение Nox происходит за счет формирования комплекса (ассоциата) между ферригемоглобином (ферриHb) и локализованной на поверхности клеток поджелудочной железы Nox. ЭПОМ оказывает определенное регулирующее действие, сохраняет жизнь животных при эксперимен-

тальном сахарном диабете за счет предотвращения разрушения поджелудочной железы [1]. Этот эффект реализуется за счет подавления NADPH зависимой супероксид(O_2^-)-продуцирующей активности Nox с увеличением активности ключевых антиоксидантных ферментов (Cu, Zn-COD, Mn-COD и каталазы). Аналогичное комплексообразование ферриHb с изоформами внутриклеточной и внеклеточной Nox наблюдается при различных патологических состояниях, когда имеет место снижение стабильности эритроцитарных мембран [24,38]. Возможно, за счет стимулирования перекисного окисления фосфолипидных остатков мембран клеток поджелудочной железы, генерируемыми АФК, увеличивается возможность проникновения гемоглобина в эти мембраны с образованием нестабильного комплекса с локализованной в этих мембранах Nox. Это явление носит, по всей видимости, универсальный характер и наблюдается практически для всех типов Nox. Не исключено, что при сахарном диабете в организме происходит не только увеличение активности Nox в клетках селезенки, эритроцитарных мембранах, мембранах, митохондриях и ядрах клеток селезенки, но и в мембранах β -клеток поджелудочной железы за счет продукции АФК, в результате чего в поджелудочной железе возникают необратимые изменения. Лечебный эффект ЭПОМ реализуется именно за счет восстановления нарушенного при введении СТЦ баланса про- и антиоксидантных процессов в клетке. Проведенное исследование по выявлению влияния ЭПОМ на релизинг Nox из мембранных образований эритроцитов и сыворотки крови больных диабетом типа 1 и 2 *ex vivo* показало, что удельное содержание отщепленных Nox повышается не только при стрептозотоциновом диабете у крыс, но и при диабете типа 1 и 2 у человека. ЭПОМ подавляет процесс отщепления оксидаз, оказывая стабилизирующий эффект на ЭМ и экзосомы [17], которые, как известно, будучи наночастицами обладают способностью переходить из клетки в кровь при различных патологических состояниях, в том числе, при сахарном диабете [21,22,39]. Повышенный уровень малонового диальдегида (МДА) в крови при диабете [46] отражает адекватное увеличение перекисного окисления липидов, в том числе и в экзосомах. Повышение уровня МДА в биологических мембранах (ЭМ, экзосомах) приводит к увеличению текучести этих мембран и облегчает процесс высвобождения Nox. Хотя ЭПОМ, сам по себе, не наделен антиоксидантной активностью, он обладает способностью активировать ключевые антиоксидантные ферменты, которые расположены не только в цитоплазме, но и в клеточных мембранах. Таким образом, ЭПОМ проявляет мембраностабилизирующий эффект, опосредованно подавляя перекисное окисление липидов [47]. Согласно полученным данным, изоформы Nox могут также служить в качестве рецептора инсулина [5]. С учетом этого обстоятельства становится очевидным, что высвобождение Nox у больных сахарным диабетом снижает

концентрацию функционально активных рецепторов в мембранах клеток, в том числе и в бета-клетках, что, в свою очередь, тормозит процесс сигнальной трансдукции, активацию внутриклеточных тирозинкиназ и, наконец, активацию гексокиназы (глюкокиназы), одного из ключевых ферментов гликолиза [41]. Глюкокиназа определяет уровень метаболизма глюкозы в бета-клетках в качестве центрального регулятора глюкозо-стимулированной секреции инсулина. ЭПОМ подавляет высвобождение Nox из различных мембранных структур и восстанавливает механизм сигнальной трансдукции инсулина, тем самым обеспечивая эугликемию. Поскольку известно, что изоформы Nox являются значимыми структурными и функциональными компонентами ЭМ, экзосом, и мембран клеток иммунной системы [21], то увеличение их высвобождения с усилением перекисного окисления липидов при диабете 1 и, в особенности, типа 2 соответственно понижает стабильность этих мембран. Выдвинутое нами допущение можно рассматривать в качестве нового механизма дестабилизации биологических мембран. Подавление процесса высвобождения изоформ Nox из ЭМ и экзосом у больных сахарным диабетом типа 1 и 2 под влиянием ЭПОМ может рассматриваться в качестве возможного механизма его мембраностабилизирующего эффекта *ex vivo*. Эти данные создают основу для терапевтического применения ЭПОМ у больных сахарным диабетом 1 и, в особенности, 2 типа *in vivo*.

Что касается эффекта экзогенной глюкозы на процесс высвобождения изоформ Nox в крови больных диабетом типа 1 и 2, то в зависимости от концентрации глюкозы он имеет двоякий характер. С одной стороны, глюкоза стимулирует перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот в ЭМ [27,36], способствуя высвобождению Nox, с другой стороны, связываясь с определенным доменом в составе молекулы Nox, защищает последнюю от повреждающих эффектов образующихся гидроксильных радикалов.

Следует учесть, что глюкоза является эффективным скавенджером $HO\cdot$ радикалов при неферментативном расщеплении перекиси водорода, в ходе которого образуются супероксиды [41]. Следуя этой логике, Nox может присоединять небольшие ее количества, возможно и по рецепторному механизму.

Механизм усиления высвобождения изоформ Nox из ЭМ и экзосом сыворотки (ЭС) крови в присутствии ферриHb при диабете может происходить по аналогии с клетками мозговой ткани и обусловлен дестабилизацией клеточных мембран, которая возникает вследствие связывания ферриHb с поврежденными участками (в результате липидной перекисации) поверхности клеточных мембран, включая ЭМ и экзосомы [15,34], с образованием нестабильного комплексного соеди-

нения между железом гемоглобина и NO в составе Nox [10,28]. В результате этого формируется нитрогемоглобин, что облегчает выход Nox и eNox из гетерогенной фазы из клеточных мембран и экзосом в гомогенную – растворимую фазу [25]. Аналогичные изменения с высвобождением Nox наблюдаются при различных патологических состояниях, таких как интоксикация солями тяжелых металлов [16], злокачественные новообразования [12].

С другой стороны, изоформы Nox являются флавинодерживающими гликопротеинами [13] и, не исключается, что экзогенная глюкоза может восстанавливать потерю части углеводов в составе молекулы Nox, сохраняя нативность, соответственно, и активность Nox. Получается, что низкие концентрации глюкозы оказывают положительный эффект, тогда как высокие концентрации – повреждающий эффект, путем стимуляции липидной перекисидации и дестабилизации клеточных мембран, включая ЭМ и мембраны ЭС [2]. В свою очередь, ослабление стабильности эритроцитарных мембран индуцирует высвобождение изоформ Nox, которые локализованы на поверхностных участках клеточных мембран и являются их структурно-функциональными компонентами [33,34].

Таким образом, при низких концентрациях глюкоза связывается с изоформами Nox на ЭМ и ЭС (которые, возможно, при низкой концентрации глюкозы являются ее рецепторами), а при высоких концентрациях глюкоза, наоборот, понижает стабильность ЭМ и ЭС, показателем чего является высвобождение Nox из этих биосистем при диабете 1 и, особенно, 2 типа, что, увеличивая продукцию АФК, еще более усугубляет дестабилизацию биомембран. Развивается мембранная патология, которая, в свою очередь, вносит вклад в патогенез сахарного диабета. Получается замкнутый процесс, который необходимо прервать, используя мембраностабилизирующие средства.

Собственными исследованиями установлено [4], что дозозависимое внесение инсулина в среду эритроцитов, выделенных из крови крыс со СТЦ-ид, обеспечивает поддержание O_2^- -продуцирующей активности Nox на оптимальном уровне. В данном конкретном случае эти сдвиги следует рассматривать в качестве ответной физиологической реакции, поскольку известно, что инсулин обеспечивает соответствующий нормальный уровень супероксидного аниона в органах и тканях млекопитающих.

Выявленное нами снижение уровня ПОЛ в сыворотке крови под влиянием инсулина связано, по-видимому, с подавлением продукции O_2^- инсулином. Положительным действием инсулина можно считать и существенное увеличение ферриhв-восстанавливающей активности Nox и eNox как факторов улучшения кислородного

гомеостаза. Почти аналогичный эффект инсулина на активность Nox в гомогенной и гетерогенной фазах (в ЭМ) свидетельствует о том, что инсулин может проникать через ЭМ, при этом у диабетиков текучесть и проницаемость ЭМ повышается [23] и инсулин может входить в контакт с Nox. Можно констатировать, что активирование инсулином ферментных систем эритроцитов, ответственных за поддержание энергетического баланса [43], связано с повышением уровня и активности O_2^- , продуцируемых Nox, что согласуется с положением о том, что Nox является рецептором инсулина, который активирует Nox путем фосфорилирования соответствующего домена (возможно, тирозиновые остатки) молекулы Nox [42].

Возможно, за счет стимулирования перекисного окисления фосфолипидных остатков мембран клеток поджелудочной железы (при их аэробной инкубации) генерируемыми АФК увеличивается возможность проникновения гемоглобина в эти мембраны с образованием нестабильного комплекса с локализованной в этих мембранах Nox [6]. Фактически образование нестабильного комплекса между гемоглобином и Nox имеет универсальный характер и наблюдается практически для всех типов Nox.

Процесс подавления высвобождения Nox из мембран клеток поджелудочной железы при введении ЭПОМ следует рассматривать в качестве нового механизма биологической активности ЭПОМ, проявляющегося в стабилизации этих мембран, а также подтверждением выявленного нами антидиабетического эффекта ЭПОМ при СТЦ-ид.

Таким образом, в результате проведенных собственных экспериментальных и клинических исследований показан новый возможный механизм дестабилизации мембран при сахарном диабете. ЭПОМ на фоне диабета проявляет мембраностабилизирующее действие, суть которого состоит в подавлении высвобождения Nox из мембран клеток поджелудочной железы, регуляции продукции супероксидного аниона, предотвращении или устранении окислительного стресса и, наконец, в поддержании иммунного статуса организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанова Е.М. Влияние ЭПОМа на инсулярный аппарат, а также гистологическую структуру поджелудочной железы крыс при стрептозотоциновом диабете. Ліки України (Украина) 2012; 1-2(9-10): 88-91.
2. Агаджанова Е.М. Регуляция гормонов, вовлеченных в патогенез сахарного диабета, с помощью ЭПОМ. Экспер. клин. мед. (Грузия) 2012; 3: 38-44.
3. Агаджанова Е.М. Дозозависимое стимулирование глюкозой экспрессии и активности изоформ NADPH-оксидазы из эритроцитарных мембран и экзосом сы-

воротки крови больных диабетом. *Кровь* 2013; 1(15): 51-58.

4. Агаджанова Е.М. Влияние глюкозы и инсулина на активность Nox в крови больных сахарным диабетом и регуляция ее посредством эмбрионального противоопухолевого модулятора. *Архив внутренней медицины*. М.: 2014; 3(17): 29-35.

5. Агаджанова Е.М., Симонян М.А. Влияние эмбрионального противоопухолевого модулятора на уровень и активность металлопротеинов у крыс при стрептозотоциновом диабете. *Мед. наука и образ*. 2011; 9: 13-19.

6. Агаджанова Е.М., Симонян Р.М., Оксюзян Г.Р., Симонян Г.М., Симонян М.А. Эмбриональный противоопухолевый модулятор Mkrтчяна подавляет гемоглобин-стимулируемый рилизинг Nox в клетках поджелудочной железы при стрептозотоцин-индуцированном диабете у крыс. *Вопр. теорет. клин. мед.* 2013; 8(85): 56-59.

7. Агаджанова Е.М., Мкртчян Л.Н. Влияние ЭПОМ на гистологическую структуру висцеральных органов при экспериментальном сахарном диабете. *Мед. наука и образ*. 2013; 14: 103-112.

8. Aghajanova Y, Narutyunyan H, Mkrтчyan L, Aghajanova M. Embryonal antitumor modulator of Mkrтчyan prevents streptozotocin-induced damage of mouse and human pancreatic beta cells in primary culture. *Georgian Medical News (Тбилиси-Нью-Йорк)*: 2014; 11(236): 86-93.

9. Алексанян С.С., Степанян А.А., Симонян М.А. Количественные сдвиги металлопротеинов крови при сердечной аритмии и гипертонии. *Вестник МАНЭБ (СПб)*: 2003; 8(7): 164-167.

10. Мелконян Л.Г., Симонян Р.М., Секоян Э.С., Симонян М.А. Изменения NADPH-зависимой супероксид-продуцирующей и ферриНв-восстанавливающей активности цитохрома b₅₅₈ из мембран клеток селезенки и эритроцитов, индуцированной излучением различной природы. *ДНАН РА*. 2009; 109(3): 225-235.

11. Мкртчян Л.Н. Эмбриональный противоопухолевый модулятор Mkrтчяна. Патент РФ N2240810, Январь 2004.

12. Симонян Г.М., Карапетян А.В., Симонян Р.М., Бабабян М.А., Симонян М.А., Галоян А.А. Противоопухолевый и антистрессорный эффект БПП-1 гипоталамуса при саркоме 45: возможные биохимические механизмы. *Нейрохимия* 2005; 22(2): 125-130.

13. Симонян Г.М., Нерсесян А.К., Симонян Р.М., Бабабян М.А., Симонян М.А., Галоян А.А. Противоопухолевый и антистрессорный эффекты обогащенного пролином пептида гипоталамуса при саркоме-45: возможные биохимические механизмы. *Нейрохимия* 2005; 22(2): 125-130.

14. Симонян М.А., Бабабян М.А., Симонян Г.М. Цитохромы b₅₅₈ из сыворотки крови и мембран эритроцитов. Выделение, очистка и краткие характеристики. *Биохимия* 1995; 60(2): 1977-1987.

15. Симонян Р.М., Галоян К.А., Симонян Г.М., Хачатрян А.Р., Бабабян М.А., Оксюзян Г.Р., Симонян М.А. Ферригемоглобин индуцирует рилизинг NADPH оксидазы из

клеток мозговой ткани *ex vivo*: подавления этого процесса галармином. *Нейрохимия* 2013; 30(3): 1-5.

16. Симонян Р.М., Симонян Г.М., Бабабян М.А., Симонян М.А., Галоян А.А. Транслокация цитохрома b₅₅₈ из мембран эритроцитов интактной и облученной X-лучами крови при их инкубировании *in vitro*. Подавление этого процесса препаратами антиоксидантного действия. *Мед наука Армении* 2003; 43: 26-31.

17. Сиракян М.С., Симонян Г.М., Бабабян М.А., Симонян М.А. Характерные изменения уровня и активности антиоксидантных и прооксидантных металлопротеинов крови крыс при острой интоксикации ионами кальция. *Вестник МАНЭБ (СПб)*: 2006; 11(3): 192-198.

18. Aghajanova YM. EATM decreases *ex vivo* releasing of NADPH-oxidases from erythrocyte membranes and blood serum of patients with diabetes types 1 and 2. *The New Arm. Med. J.* 2013; 7(3): 23-31.

19. Bagri P, Ali M, Aeri V, Bhowmik M, Sultana S. Antidiabetic effect of Punica granatum flowers: effect of hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food Chem-Toxicol.* 2009; 47(1): 50-54.

20. Berridge MV, Tan AS. High-capacity redox control at the plasma membranes of mammalian cells: trans-membrane, cell surface, and serum NADH-oxidases. *Antioxid Redox Signal.* 2000; 2(2): 231-242.

21. Cho N, Morre DJ. Early developmental expression of a normally tumor-associated and drug-inhibited cell surface-located NADH oxidase (ENOX2) in non-cancer cells. *Cancer Immunol Immunother.* 2009; 58(4): 547-52.

22. Duijvest D, Luider T, Bangma SH, Jenster G. Exosomes as biomarker treasure chests for prostate cancer. *Eur Urol.* 2011; 59(5): 823-831.

23. Ferrera A, Rivera A, Romero JR. Na/Mg exchange in functionally coupled to the insulin receptor. *J Cell Physiol.* 2004; 199(3): 434-440.

24. Golbidi S, Badran M, Laher I. Diabetes and alpha lipoic acid. *Front Pharmacol.* 2011; 17(2):69.

25. Ibrahim YI, Ninnis JR, Hopper AO et al. Inhaled nitric oxide therapy increases blood nitrite, nitrate, and s-nitrosohemoglobin concentrations in infants with pulmonary hypertension. *J Pediatr.* 2012; 160(2): 245-251.

26. Ismail N, Bloch K, McBride J. Human Ehrlichiosis and Anaplasmosis. *Clin Lab Med.* 2010; 30(1): 261-292.

27. Jain SK, Lim G. Lipoic acid decreases lipid peroxidation and protein glycosylation and increases (Na⁺ + K⁺)- and Ca⁺⁺-ATPase activities in high glucose-treated human erythrocytes. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29(11): 1122-1128.

28. Janiszewski M, Do Carmo AO, Pedro MA, Silva E, Knobel E, Laurindo FR. Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAD(P)H oxidase activity: A novel vascular redox pathway. *Crit Care Med.* 2004; 32(3):818-825.

29. Katare R, Stroemer P, Hicks C, Stevanato L, Patel S, Corteling R, Miljan E, Vishnubhatla I, Sinden J, Madeddu P. Clinical-grade human neural stem cells promote reparative neovascularization in mouse models of hindlimb ischemia.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014;34(2):408-418.

30. Kotlinowski J, Dulak J, Józkwicz A. Type 2 diabetes mellitus impairs endothelial progenitor cells functions. *Postepy Biochem.* 2013; 59(3):257-66.

31. Lohneysen K, Noak D, Wood MR, Friedman JS, Knaus UG. Structural inside into Nox4 and Nox2: Motifs involved in function and cellular localization. *Mol. Cell. Biol.* 2010; 30(4): 961-975.

32. Mkrtychyan LN. On a new strategy of preventive oncology. *Neurochem Res.* 2010; 35: 868-874.

33. Morre DJ, Morre DM, Sun H et al. Tea catechin synergies in inhibition of cancer cell proliferation and of a cancer specific cell surface oxidase (ECTO-NOX). *Pharmacol. Toxicol.* 2003; 92(5): 234-241.

34. Morre DM, Guo F, Morre DJ. An aging-related cell surface NADH oxidase (arNOX) generate superoxide and is inhibited by coenzyme Q. *Mol Cell Biochem.* 2003; 254(1-2): 101-109.

35. Nam JS, Ahn CW. Oxidative stress, point-of-care test, and metabolic syndrome. *Korean J Intern Med.* 2014; 29(1):20-22.

36. Nandhini TA, Anuradha CV. Inhibition of lipid peroxidation, protein glycation and elevation of membrane ion pump activity by taurine in RBC exposed to high glucose. *Clin. Chim. Acta.* 2003; 336(1-2):129-135.

37. Peixoto EB, Pessoa BS, Biswas SK, Lopes de Faria JP. Antioxidant SOD mimetic prevents NADPH oxidase-induced oxidative stress and renal damage in the early stage experimental diabetes and hypertension. *Am J Nephrol.* 2009; 29(4): 309-314.

38. Porat Sh, Weinberg-Corem N, Tomovsky-Babaey Sh, Schyr-Ben-Haroush R, Hija A et al. Control of pancreatic β -cell regeneration by glucose metabolism. *Cell Metabol.* 2011; 13: 440-449.

39. Rupp AK, Rupp C, Keller S, Brase JC, Eehalt R, Fogel M, Moldenhauer G, Marmé F, Sülmann H, Altevogt P. Loss of EpCAM expression in breast cancer derived serum exosomes: role of proteolytic cleavage. *Gyn Oncol.* 2011; 122(2): 437-446.

40. Selemidis S, Dusting G, Peshavariya H, Kemp-Harper B, Drummond G. Nitric oxide suppresses NADPH oxidase-dependent superoxide production by *S*-nitrosylation in human endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2007; 75 (2): 349-358.

41. Simonyan MA. Reduction of some organic and inorganic oxidants in alkaline media by superoxide dismutase and scavengers of hydroxyl radicals. *Biochem Biophys Res Commun.* 1982; 108(4): 1751-1756.

42. Takahashi S, Kimura S, Kaya H, Iizuka A, Wong HL, Shimamoto K, Kuchitsu K. Reactive oxygen species production and activation mechanism of the rice NADPH oxidase. *OsRbohB. J Biochem.* 2012; 152(1): 37-43.

43. Thirunavukkarasu V, Anuradha CV. Influence of alfa-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant defense system in blood of insulin-resistant rats. *Diabetes Obes Metab.* 2004; 6(3): 200-207.

44. Vahedian V, Aghajanova YM, Kevorkian GA, Simonian MA. Antioxidative effects of proteoglycans of embryonic genesis in streptozotocin-induced diabetic rats.

Research and Report in Biochem. 2013, 2013; 3: 31-36.

45. Vahedian V, Aghajanova Y, Kanayan A, Harutunyan H. The prophylactic hypoglycemic action of the Embryonic antitumor modulator (EATM). *Blood.* 2011; 1(11): 32-36.

46. Vahedian V, Aghajanova Y. Experimental diabetes mellitus and its prevention by Proteoglycans of embryonic genesis. *The New Arm Med J.* 2010; 4(1): 139.

47. Vahedian V, Aghajanova YM, Simonyan MA, Aghajanov MI. The preventive effect of embryonic antitumor modulator (EATM) on the level and activity of metalloproteins in rats with streptozotocin-induced diabetes. *The New Arm Med J.* 2011; 4(4): 57-63.

48. Vignais PV. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci.* 2002; 59(9): 1428-1459.

49. Yenkovyan K, Safarian K, Navasardyan G, Mkrtychyan L, Aghajanov M. Effects of beta-amyloid on behaviour and aminoacid spectrum in rat's brain and their modulation by embryonic proteins. *Neurochem Internat.* 2009; 154: 292-298.

SUMMARY

NEW MECHANISM OF HYPOGLYCEMIC ACTION OF EMBRYONIC ANTITUMOR MODULATOR MKRTCHYAN BY ACTIVATION OF IT'S MEMBRANOPROTECTIVE EFFECT

Aghajanova E.

M. Heratsi Yerevan State Medical University, Armenia

As a new means of prevention and treatment of diabetes can be considered Embryonic antitumor modulator Mkrtychyan (EATM). According to our data on the STZ model of diabetes in rats EATM revealed hypoglycemic effect. Moreover, EATM prevented the development of oxidative stress. It is shown that EATM having immunomodulatory action, realizes its effect by regulating the Nox (NAPH oxidase) system. Inactivation of Nox, including the pancreas, is one of the factors determining the safety of the organ responsible for the development of diabetes. The release of the Nox is increased *ex vivo* and in the patients with type 1 and 2 diabetes. Mechanism for enhancing of the Nox isoforms release from erythrocyte membranes and blood serum exosomes in the presence of ferriHb in diabetes may be due to destabilizing of the cell membranes. It is established that the glucose at low concentrations bound to isoforms of Nox at the membrane surface due to increasing their stability, and at high concentrations, on the contrary, it lowers their stability. Thus, we have demonstrated a new mechanism of destabilization of cell membranes in diabetes mellitus. Suppression of the release of the pancreas Nox membrane cells in this pathology by means of EATM is perhaps a new mechanism of stabilization of these membranes, which explains the antidiabetic effect of the preparation.

Keywords: diabetes mellitus, Embryonal.

РЕЗЮМЕ

НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЭМБРИОНАЛЬНОГО ПРОТИВО-ОПУХОЛЕВОГО МОДУЛЯТОРА МКРТЧЯНА ПУТЕМ АКТИВАЦИИ ЕГО МЕМБРАНОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА

Агаджанова Е.М.

Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, Армения

В качестве нового средства профилактики и лечения диабета может рассматриваться эмбриональный противоопухолевый модулятор Мкртчяна (ЭПОМ). По полученным в результате исследования данным при стрептозотоциновой модели диабета у крыс препарат оказывает гипогликемическое действие. При этом ЭПОМ предотвращает развитие окислительного стресса. Показано, что ЭПОМ, обладающий иммуномодулирующим действием, реализует свой эффект и за счет регуляции системы Nox (NAPH oxidase). Подавление активности Nox, в том числе и в поджелудочной железе, является одним из факторов, который определяет сохранность органа, ответственного за развитие диабета. Повышение высвобождения Nox установлено *ex vivo* и у больных диабетом типа 1 и 2. Механизм усиления высвобождения изоформ Nox из эритроцитарных мембран и из экзосом сыворотки крови в присутствии ферригемоглобина при диабете может быть обусловлен дестабилизацией клеточных мембран. Установлено, что в опытах *in vitro* глюкоза в низких концентрациях связывается с изоформами Nox на поверхности мембран вследствие повышения их стабильности, а при высоких концентрациях, наоборот, понижает их стабильность. Таким образом, авторами статьи показан новый механизм дестабилизации клеточных мембран при сахарном диабете. Подавление высвобождения Nox из мембран клеток поджелудочной железы при диабете препаратом ЭПОМ, по всей вероятности, является новым механизмом стабилизации этих мембран, что позволяет судить об антидиабетическом эффекте препарата.

რეზიუმე

მკრტჩიანის ემბრიონული ანთებისსაწინააღმდეგო მოდულატორის ჰიპოგლიკემიური მოქმედების მექანიზმი, დაფუძნებული მისი მემბრანოპროტექტორული ეფექტის აქტივიზაციაზე

ე. აგაჯანოვა

მ. ჰერაცის სახ. ერენის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სომხეთი

მკრტჩიანის ემბრიონული ანთებისსაწინააღმდეგო მოდულატორი (მეამ) განიხილება როგორც დიაბეტის პროფილაქტიკის და მკურნალობის ახალი საშუალება. ავტორთა მონაცემების მიხედვით, პრეპარატი ვირთავებში დიაბეტის სტრუქტურ-ზოტოციურ მოდელზე ახდენს ჰიპოგლიკემიურ მოქმედებას, აფერხებს ჟანგვითი სტრესის განვითარებას. სტატიაში ნაჩვენებია, რომ მეამ, რომელსაც გააჩნია იმუნომოდულატორული ზემოქმედების თვისება, ახდენს ეფექტს NOX-ის სისტემის დარეგულირების ხარჯზე. NOX-ის აქტივობის დათრგუნვა, მათ შორის კუჭუკანა ჯირკვალშიც, წარმოადგენს ერთ-ერთ ფაქტორს, რომელიც იცავს დიაბეტის განვითარების დაცვაზე პასუხისმგებელ ორგანოს. NOX-ის გამონთავისუფლების მატება დადგენილია *ex vivo* 1 და 2 ტიპის დიაბეტით ავადმყოფებში. ერთროციტული მემბრანებიდან და სისხლის შრატის ეკზოსომიდან NOX-ის იზოფორმების გამონთავისუფლების დაჩქარების მექანიზმი ფერიჰემოგლობინის არსებობის პირობებში შეიძლება გამოწვეული იყოს უჯრედული მემბრანების დესტაბილიზაციით.

დადგენილია, რომ *in vitro* ცდებში გლუკოზა დაბალ კონცენტრაციებში უკავშირდება NOX-ის იზოფორმებს მემბრანის ზედაპირზე მათი სტაბილობის ხარჯზე, ხოლო მაღალი კონცენტრაციის პირობებში კი აქვეითებს მათ სტაბილობას.

ამგვარად, სტატიის ავტორების მიერ ნაჩვენებია შაქრის დიაბეტის დროს უჯრედული მემბრანების დესტაბილიზაციის მექანიზმი. NOX-ის გამონთავისუფლების დათრგუნვა კუჭუკანა ჯირკვალის უჯრედის მემბრანებიდან მეამ-ით დიაბეტის დროს შესაძლოა წარმოადგენს ამ მემბრანების სტაბილიზაციის მექანიზმს, რაც მეტყველებს პრეპარატის ანტიდიაბეტურ ეფექტზე.

ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ НА СЕЛЕЗЕНКЕ – ГИСТО- УЛЬТРАСТРУКТУРА ОРГАНА

Амиранидзе М.В., Сумбадзе Ц.М., Сихарулидзе И.Т., Гвидани С.А., Маркарян С.А.

*Тбилисский государственный университет им. И. А. Джавахишвили,
Институт морфологии им. А.Н. Натишвили, Грузия*

Несмотря на значимую роль селезенки в контроле иммунного статуса организма, ее травматические повреждения в большинстве случаев требуют хирургического лечения - спленэктомии, что, в основном, обусловлено невозможностью достижения надежного гемостаза [6,13]. После спленэктомии, ввиду выпадения функции селезенки, уникального фагоцитарного фильтра и антителообразующего органа, происходит снижение концентрации IgG и IgM, общего количества комплемента и его C3 и C4 фракций, уменьшение количества зрелых Т-лимфоцитов, фагоцитарной активности макрофагов и, как следствие - понижение антителообразования к специфическим антигенам. После спленэктомии отмечаются также изменения в системе гемостаза с развитием хронического синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания [7]. При морфологическом исследовании печени крыс в отдаленные сроки (3-6 мес.) после удаления селезенки нами обнаружены нарушения микроциркуляции, обширные некрозы в паренхиме печени, фиброз портальной триады а также пролиферация “ложных” желчных протоков, что указывает на нарушение холестеринобразующей функции печени [1,2]. Происходит неполная детоксикация субстратов, поступающих из v. porta, определенная часть которых попадает в систему нижней полой вены и распространяется по всему организму [3].

Постспленектомический сепсис является грозной формой инфекционного процесса и может проявиться даже спустя 25 лет после спленэктомии. При этом от первых симптомов до летального исхода может пройти всего несколько часов [5,8-13]. Вышеуказанные последствия спленэктомии обосновывают тенденцию разработки и внедрения органосохраняющих операций и рациональной оценки ассоциированных с ними рисков [12,13].

Целью исследования явилась детализация функциональной активности селезенки по данным гистологических и ультраструктурных особенностей органа как показателя функциональной состоятельности.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 36 беспородных белых лабораторных крысах-самцах массой тела 130-160 грамм. Животным под эфирным наркозом удаляли 40-60% ткани селезенки посредством лапаротомии. Контролем служили ложнопери-

ванные животные (лапаротомия). Эвтаназию производили под общим наркозом спустя 1, 7, 15, 30, 90 и 180 суток после операции. Образцы ткани селезенки фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обрабатывали и окрашивали гематоксилином и эозином. Толщину капсулы селезенки определяли с помощью винтового окулярмикрометра МОВ – 15х (ок.х15, об.х40, Россия), оставшуюся часть селезенки взвешивали после забоя на аналитических весах. Статистическую обработку результатов проводили в программе Microsoft Excel, version 7,0 достоверность полученных результатов оценивали по t-критерию Стьюдента, при значении $p < 0,05$ результаты считали статистически значимыми.

Для электронно-микроскопического исследования образцы ткани селезенки обрабатывали по методике Palade [10]. Ультратонкие срезы после двойного контрастирования изучали под электронным микроскопом BS-500 («TESLA», Чехословакия) при увеличении от 4000 до 14000X.

Результаты и их обсуждение. Данные экспериментов свидетельствуют, что спустя 24 часа после резекции органа масса оставшейся части селезенки составляла 49,36% от исходной. Толщина капсулы, по сравнению с нормой, достоверно увеличилась на 74,75% ($p < 0,01$), что, очевидно, вызвано венозным застоем и полнокровием; в зоне раневой поверхности отмечались очаговые кровоизлияния. При электронно-микроскопическом исследовании в пульпе селезенки привлекает внимание стаз и агрегация форменных элементов крови. На 7 сутки эксперимента масса селезенки - ниже нормы, толщина капсулы - $12,5 \pm 0,65$ мкм. На 15 сутки масса селезенки по-прежнему ниже нормы, толщина капсулы, по сравнению с предыдущим сроком опыта, несколько уменьшилась, хотя и выше нормы на 89,46% ($p < 0,01$) (таблица). Выявленные в период 7-15 суток изменения свидетельствуют о повышении проницаемости сосудов (рис. 1). Клетки, образующие наружную стенку сосуда, соединены путем простого прилегания друг к другу, местами отмечается слущивание эндотелия с формированием своеобразных клеточных агрегатов из лимфоидных и плазматических клеток (рис. 2). Спустя 15 суток после операции в венозных синусах отмечаются агрегация тромбоцитов и эритроцитов (рис. 3).

Таблица. Масса и толщина капсулы селезенки
после частичной ее резекции на различных сроках опыта

Сроки наблюдения (сутки)	Группы животных	Масса селезенки (мг)			Толщина капсулы (мкм)		
		М±м	р	%	М±м	р	%
1	опыт	314±4,58	<0,01	49,36	11,27±0,42	<0,01	74,75
	контр.	620± 8,0			6,45±0,20		
7	опыт	428±2,86	<0,01	31,19	12,5±0,65	<0,01	93,80
	контр.	622 ±9,72			6,45±0,20		
15	опыт	400±17,02	<0,01	36,51	12,20±0,59	<0,01	89,46
	контр.	630±10,77			6,45±0,20		
30	опыт	388±17,88	<0,01	35,15	11,49±0,65	<0,01	78,14
	контр.	586±8,88			6,45±0,20		
90	опыт	426±4,58	<0,01	37,54	9,90±0,66	<0,01	53,49
	контр.	682±2,71			6,45±0,20		
180	опыт	492±2,63	<0,01	36,1	8,88±0,59	<0,05	37,67
	контр.	770±3,74			6,45±0,20		

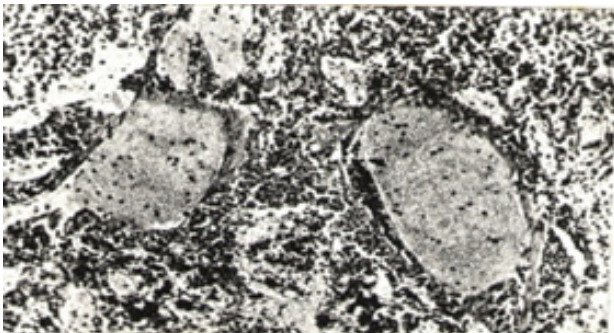


Рис. 1. Пульпа селезенки спустя 15 суток после резекции части органа. Венозные синусы расширены, в просвете стаз и агрегация эритроцитов. Окр. гематоксином и эозином, X160

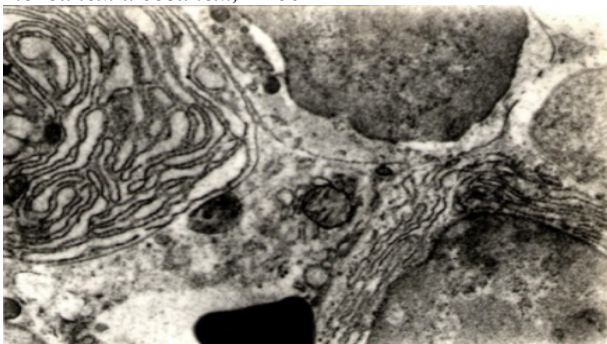


Рис. 2. Пульпа селезенки на 7 сутки после эксперимента. Тесный контакт плазматических клеток с лимфоцитом. X 6000

Спустя 30 суток после операции масса селезенки остается ниже нормы и не отличается от данного показателя спустя 15 суток. Толщина капсулы несколько понижена по сравнению с предыдущим наблюдением, однако она больше нормы на 78,14%. Следует предположить, что утолщение капсулы, в отличие от ранних сроков, происходит

за счет возрастания фиброзной ткани. Спустя три месяца масса селезенки составила 426±4,58 мг, что меньше нормы на 37,54% ($p<0,01$) по сравнению с предыдущим сроком; толщина капсулы уменьшилась, но осталась выше нормы на 53,49%. К концу срока наблюдения масса селезенки увеличилась на 13,26% относительно первых суток после операции. Толщина капсулы, меньше чем на всех предыдущих сроках наблюдения, хотя и превышает норму на 37,67% ($p<0,05$). При гистологическом исследовании в белой пульпе представлены лимфатические фолликулы. Некоторые лимфатические фолликулы имеют тенденцию формирования центров размножения.

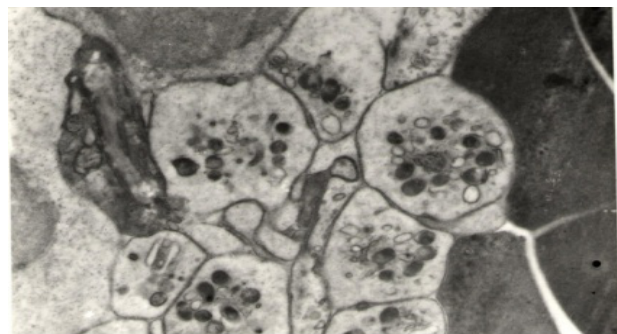


Рис. 3. Пульпа селезенки на 15 сутки после резекции части органа. Агрегаты тромбоцитов и эритроцитов в просвете венозных синусоидов. X 9000

Следовательно, основными патогистологическими сдвигами в селезенке после органосохраняющей операции являются нарушения микроциркуляции уже в первые сутки эксперимента. Причиной может быть повреждение целостности сосудов и паренхимы с вымыванием в микроциркуляторное русло тканевых факторов коагуляции форменных элементов крови (кровотечение), продуктов их распада, с последующим

увеличением вязкости крови, адгезивностью форменных элементов крови и тромбоцитов к эндотелию, создающих препятствие кровотоку [1,3,7].

Данный факт в наших опытах подтверждается картиной сладжа в синусоидах в остром периоде. Эти изменения, свойственные острому периоду после частичной резекции селезенки, проявляются субституцией стромы с утолщением стенки сосудов, огрубления их аргирофильного каркаса и уплотнения трабекул [2].

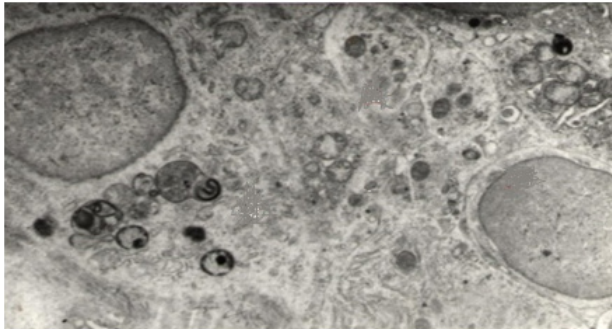


Рис. 4. Пульпа селезенки спустя 30 суток после резекции части органа. Фагоцитирующая ретикулярная клетка, интериоризация и частичная дегрануляция тромбоцитов. X 4000

Необходимо отметить, что спустя 30 суток и далее после операции обнаруживались фагоцитирующие ретикулярные клетки с многочисленными лизосоноподобными тельцами, содержащие плотные осмиофильные включения (рис. 4). Отмечается усиление дегрануляции тромбоцитов, очевидно, с выделением биологически активных веществ, участвующих в активации свертывающей системы крови [9]. Предполагаем, что одной из причин застойных явлений в сосудах селезенки и, соответственно, изменения реологии крови, помимо операционной травмы, может быть увеличение вязкости крови. Данные литературы [4,6,11,12] свидетельствуют, что операционная травма как причина расстройства микроциркуляции, ишемии и нарушения обмена веществ способствует дистрофическим изменениям в тканях поврежденной селезенки, торможению созревания плазматических клеток, очевидно, имеющих сигнал об аутоантигенном стимуле Т-хелперной активности [7].

Таким образом, результаты сочетанного гисто- и ультраструктурного исследования селезенки свидетельствуют о наличии и реализации ее защитной функции, пригодной для оценки целесообразности органосохраняющей операции, что и являлось целью нашего исследования. Исходя из вышеизложенного, органосохраняющие операции на селезенке могут быть рекомендованы как операция выбора при наличии четких клинических показаний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амиранидзе М.В., Махароблидзе Э.Р., Гоишвили Н.З., Мchedlishvili М.Ю., Сихарулидзе И.Т. Морфологические особенности селезенки после органосохраняющей операции. *Georgian Medical News* 2011; N5 (194): 80-89.
2. Амиранидзе М.В. Морфологическая характеристика селезенки и печени после резекции части селезенки и спленэктомии. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Тб.: 1989;208.
3. Донсков С.И., Чапанова Т.В. Риск и профилактика постранфузионных осложнений, обусловленных групповыми антигенами эритроцитов. *Вестник службы крови России* 2013; 4: 3-4.
4. Кузник Б.И., Цыбаков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма. *Тромбоз, гемостаз и реология* 2005; 2(22): 3-4.
5. Масляков В.В. Гнойно-септические осложнения после операции на поврежденной селезенке. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2012; 8: 20-23.
6. Тамакова В.П., Черепнев Г.В. Иммунологические критерии прогноза гнойно-септических осложнений в послеоперационном периоде. *Практическая медицина* 2011; 5(7): 122-126.
7. Looke D.F., Runnegar N.J. Splenectomy and sepsis. *Med. J.* 2012; 587 (9): 196.
8. Frasier L.L., Malani P.N., Diehl K.M. Splenectomy in older adults: indications and clinical outcomes. *Int. J. Hematol.* 2013; 97(4): 480-484.
9. Gustaf E., Rikke A., Mikael H., Garth U.H. Splenectomy and the risk of sepsis: a population-based cohort study. *Annals of Surgery* 2014; 260(6): 1081-1087.
10. Palade G.E. Bood capillaries of the hart and other organs. *Circulation* 1961; 24(2): 368.
11. Reid M.E., Lomae-Francis C. The blood group antigen. *Facts Book* 2nd ed. London: Academia Press; 2004: 561.
12. Thomson R.W., Schooren W.M., Farkas D.K. et al. Risk for hospital contact with infection in patients with splenectomy: a population-based cohort study. *Ann intern Med.* 2009; 151(8): 546-555.
13. Weledji E.P. Benefits and risks of splenectomy. *Int. J. Surg.* 2014; 12(2): 113-119.

SUMMARY

SPLEEN ORGAN-PRESERVING SURGERIES – ORGAN HISTO- ULTRASTRUCTURE

Amiranidze M., Sumbadze Ts., Sikharulidze I., Gvidani S., Markaryan S.

I. Javakhishvili Tbilisi State University, A. Natishvili Institute of Morphology, Georgia

The aim of our work is to study the functional activity of the spleen according to the histological and ultrastructural

features of the organ as an indicator of the functional viability.

Experiments performed using 36 white male rats (body mass 130-160 g.). 40-60% of the rat splenic tissue was removed by laparotomy under ether anesthesia. The rats were euthanized under general anesthesia after 1, 7, 15, 30, 90 and 180 days after surgery. Histological sections stained with hematoxylin and eosin. Ultrathin sections were studied by the electron microscope TESLA BS 500 with 4000 to 14000 magnification.

It is shown that the significant changes in the spleen after organ - preserving surgery are the microcirculatory disturbance in the first day of the experiment with the efferent cells to the bloodstream, a phenomenon of adhesion, which blocked blood circulation. The thickness of the capsule and the weight of the spleen do not reach the initial values, but histo- and ultrastructural data suggest development of defense function of the spleen and expediency of organ-preserving surgery.

Keywords: spleen, ultrastructure, splenectomy.

РЕЗЮМЕ

ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ НА СЕЛЕНКЕ – ГИСТО- УЛЬТРАСТРУКТУРА ОРГАНА

Амиранидзе М.В., Сумбадзе Ц.М., Сихарулидзе И.Т., Гвидани С.А., Маркарян С.А.

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахашвили, Институт морфологии им. А.Н. Нативили, Грузия

Целью исследования явилась детализация функциональной активности селезенки по данным гистологических и ультраструктурных особенностей органа как показателя функциональной состоятельности.

Эксперименты проведены на 36 беспородных белых лабораторных крысах-самцах массой тела 130-160 грамм. Животным под эфирным наркозом удаляли 40-60% ткани селезенки посредством лапаротомии. Крыс эвтаназировали под общим наркозом спустя 1, 7, 15, 30, 90 и 180 суток после операции. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Ультратонкие срезы изучали под электронным микроскопом BS500 (TESLA, Чехословакия) при увеличении от 4000 до 14000.

Показано, что основными сдвигами в селезенке после органосохраняющей операции являются нарушения микроциркуляции уже в первые сутки эксперимента с вымыванием в микроциркуляторное русло форменных элементов крови и феноменом адгезии и сладжа, создающих препятствие кровотоку. Толщина капсулы и масса селезенки не достигают исходного показателя, хотя данные гисто- и ультраструктурного исследования свидетельствуют о наличии и реализации защитной функции селезенки, пригодной для оценки целесообразности органосохраняющей операции.

რეზიუმე

ელენტის ორგანოშემანარჩუნებელი ოპერაცია - ორგანოს ჰისტოულტრასტრუქტურა

მ. ამირანიძე, ც. სუმბაძე, ი. სიხარულიძე, ს. გვიდანი, ს. მარქარიანი

ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ა. ნათიშვილის სახ. მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ელენტის ფუნქციური აქტივობის დეტალიზება, ჰისტოლოგიური და ულტრასტრუქტურული შეფასება ორგანოს ნაწილობრივი რეზექციის შემდგომ პერიოდში.

ექსპერიმენტები ჩატარდა 36 თეთრ უჯიშო მამრ ვირთაგვაზე, მასით 130-160 გ. ნარკოზის ქვეშ მყოფ ცხოველებს გაუკეთდა ელენტის ქსოვილის 40-60%-ის რეზექცია ლაპარატომიის მეთოდით. ექსპერიმენტიდან ვირთაგვების გამოყვანა ხდებოდა ცდის დაწყებიდან 1, 7, 15, 30, 90 და 180 დღის შემდეგ. ელენტის ქსოვილის ნიმუშები იღებებოდა ჰმატოქსილინით და ეოზინით. ელენტის ულტრასტრუქტურული ანატომიები შეისწავლებოდა ელექტრონულ მიკროსკოპში BS500 (TESLA) 4000-დან 14000-მდე გადიდებაზე. გამოკვლევამ აჩვენა, რომ ელენტის ორგანოშემანარჩუნებელი ოპერაციის შემდგომ პერიოდში მიკროცირკულაციის დარღვევა აღინიშნება ექსპერიმენტის დასაწყისშივე; სისხლის ფორმიანი ელემენტების გამორეცხვა, ადჰეზია, სლადჯი აბრკოლებს სისხლის დინებას. ელენტის მასისა და კაფსულის სისქე არ აღწევს საწყის მაჩვენებელს, თუმცა, ჰისტო- და ულტრასტრუქტურული კვლევა ადასტურებს ელენტის დამცველობითი ფუნქციის არსებობას და რეალიზებას, რაც ორგანოშემანარჩუნებელი ოპერაციის მიზანშეწონილობის შეფასების საფუძველს იძლევა.