

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія»
Українська Академія наук національного прогресу

Проблеми екології та медицини

Том 17 №3-4 2013

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 1997 році

Виходить 1 раз на 2 місяці

Зміст

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ -174 G/C ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 ПРИ НЕЛАКУНАРНЫХ ИНСУЛЬТАХ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И ЕГО АССОЦИАЦИИ С КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Дельва М.Ю......3

ENGLISH VERSION: SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF -174G/C INTERLEUKIN-6 GENE IN PATIENTS OF DIFFERENT WEIGHT CATEGORIES WITH NON-LACUNAR STROKES AND ITS ASSOCIATIONS WITH CLINICAL AND FUNCTIONAL STROKE OUTCOMES

Delva M. Yu......8

СУДИННА ПАТОЛОГІЯ У ЛІКВІДАТОРІВ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС: ФОРМУВАННЯ, МАНІФЕСТАЦІЯ, ПРОГРЕСУВАННЯ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ І ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ждан В.М., Штомпель В.Ю......13

ENGLISH VERSION: VASCULAR PATHOLOGY IN LIQUIDATORS OF THE ACCIDENT AT CHERNOBYL NUCLEAR POWER PLANT: FORMATION, MANIFESTATION, AND PROGRESSING. LITERATURE REVIEW AND OWN INVESTIGATION

Zhdan V.M., Shtompel V. Yu.17

ВПЛИВ КОРТИКОСТЕРОЇДІВ НА ФУНКЦІЮ КОРИ НАДНИРНИКІВ У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ ДЕСТРУКТИВНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Куліш М.В......21

ENGLISH VERSION: INFLUENCE CORTICOSTEROIDS ON THE FUNCTION OF THE ADRENAL CORTEX FOR PATIENTS WITH FIRSTLY DAIGNOSED DESTRUCTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

Kulish M.V.24

ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМА ГЕНА TLR4 З КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ПРИ АТОПІЧНІЙ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ

Ляховська Н.В......27

ENGLISH VERSION: RELATIONSHIP OF GENE'S POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 WITH CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN ATOPIC ASTHMA

Lyakhovskaya N. V.30

АНАЛІЗ ДИНАМІКИ КЛІНІЧНИХ ЗМІН СТАНУ РУБЦЕВОЗМІНЕНИХ ТКАНИН НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ПРОФІЛАКТИКИ ПАТОЛОГІЧНИХ РУБЦІВ ГОЛОВИ ТА ШИЇ

Скрипник В.М., Аветіков Д.С., Скікевич М.Г......34

ENGLISH VERSION: CLINICAL ANALYSIS OF THE DYNAMICS OF SCAR TISSUE CHANGES AT DIFFERENT STAGES OF PREVENTING PATHOLOGICAL SCARS OF HEAD AND NECK

Skrypnyk V.M., Avetikon D.S., Skikevych M.G......36

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

О НЕОБХОДИМОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ СПЛИТ-СИСТЕМ

Козуля С.В......38

ENGLISH VERSION: ABOUT NECESSITY OF SPLIT-SYSTEMS' FINAL DISINFECTION

Kozulya S. V.41

АЛЮМІНІЙ У ВОДАХ М. ЧЕРНІВЦІ

Руденко С. С., Андрюк В.Г......44

ENGLISH VERSION: ALUMINUM IN CHERNIVTSI WATERS

Rudenko S.S., Andriuk V.G......47

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ЕФЕКТИВНОЇ ДОЗИ ОПРОМІНЕННЯ ХВОРИМ НА НОВОУТВОРЕННЯ ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ РЕТЕНЦІЙНИХ ПУНКТІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Муковоз О.Є.50

ENGLISH VERSION: EXPERIMENTAL JUSTIFICATION OF SELECTING THE EFFECTIVE EXPOSURE DOSES FOR PATIENTS WITH MAXILLOFACIAL AREA TUMORS FOR ESTABLISHING THE RETENTION POINTS (EXPERIMENTAL STUDY)

Mukovoz O.Ye.53

АНАЛІЗ ОКРЕМИХ ГРУП МІКРООРГАНІЗМІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ АТЕРОСКЛЕРОТИЧНО ЗМІНЕНИХ КОРОНАРНИХ АРТЕРІЙ ХВОРИХ, В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД 896 A/G ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА TLR4

Скочко¹ О. В., Весніна² Л. Е., Боброва² Н. О., Шликова² О. А., Мамонтова² Т. В., Измайлова² О. В., Кайдашев¹ І. П.56

ENGLISH VERSION: ANALYSIS OF SPECIFIC GROUPS OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM ATHEROSCLEROTIC CORONARY ARTERIES OF PATIENTS DEPENDING ON ASP299GLY POLYMORPHISM OF TLR4 GENE

Skochko¹ O. V., Vesnina² L. E., Bobrova² N. O., Shlykova² O. A., Mamontova² T. V., Izmaylova² O. V., Kaydashev¹ I. P.59

ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИЕПІДЕМІЧНИХ ЗАХОДІВ ПРИ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ В ПОЛТАВСЬКІЙ ОБЛАСТІ НА СУЧАСНОМУ ЕТАПІ

Кириченко Т.С......62

ENGLISH VERSION: THE WAYS TO INCREASE THE EFFECTIVENESS OF ANTIEPIDEMIC MEASURES IN CASE OF HIV-INFECTION IN POLTAVA REGION AT THE PRESENT STAGE

Kyrychenko T.S......66

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ АВТОРІВ

INFORMATION FOR AUTHORS

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Дельва М.Ю.

УДК 616.831-005.1-056.5

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ -174 G/C ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 ПРИ НЕЛАКУНАРНЫХ ИНСУЛЬТАХ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И ЕГО АССОЦИИ С КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ*

Дельва М.Ю.

ВГУЗУ „Украинская медицинская стоматологическая академия”, г. Полтава

Нами вивчено розподілення однонуклеотидного поліморфізму (ОНП) -174 G/C гену інтерлейкіну-6 (IL-6) та визначено його асоціації з особливостями клінічного перебігу і функціональними наслідками нелакунарних інсультів у 33 пацієнтів з нормальною масою тіла та у 37 пацієнтів з абдомінальним ожирінням (АО) II ст. В дослідження було включено пацієнтів з відносно однаковими показниками віку (від 56 до 65 років), клінічної важкості захворювання при госпіталізації (від 5 до 10 балів згідно шкали NIHSS), розмірів церебрального ураження (від 10 до 20 см³), без цукрового діабету та вираженої супутньої патології. При нелакунарних інсультах у пацієнтів з АО II ст. достовірно частіше зустрічається -174 С алель гену IL-6, у порівнянні з пацієнтами, що мають нормальну масу тіла (65% проти 45%, $p < 0,05$). У пацієнтів з нормальною масою тіла G/G генотип -174 G/C гену IL-6 достовірно асоціюється з більш важким клінічним перебігом гострого періоду захворювання, згідно шкали NIHSS, а також з підвищеною ймовірністю розвитку «інвалідизуючих» функціональних станів (значення модифікованої шкали Ренкіна більше 2) через 12 тижнів після нелакунарного інсульту. При АО II ст. не спостерігається будь яких закономірностей клінічного перебігу нелакунарних інсультів та формування постінсультних «інвалідизуючих» функціональних наслідків в залежності від ОНП -174 G/C гену IL-6.

Ключові слова: ішемічний нелакунарний інсульт, абдомінальне ожиріння, інтерлейкін-6, ген, -174 G/C однонуклеотидний поліморфізм.

Данное исследование является фрагментом плановой научно-исследовательской работы кафедры нервных болезней с нейрохирургией и медицинской генетикой ВГУЗУ „Украинская медицинская стоматологическая академия” „Оптимизация и патогенетическое обоснование методов диагностики и лечения сосудистых и нейродегенеративных заболеваний нервной системы с учетом клинко-гемодинамических, гормональных, метаболических, генетических и иммуно-воспалительных факторов” (номер государственной регистрации 0111U006303).

Вступление

В последние годы в научной литературе появились сообщения о непосредственном и существенном влиянии ожирения, как отдельного феномена, на клиническое течение и функциональные исходы ишемических инсультов. В частности, при условии одинаковых нейровизуализационных морфометрических характеристик церебральных инфарктов, у лиц с абдоминальным ожирением (АО) ишемические инсульты характеризуются более тяжелым клиническим течением, более медленным регрессом неврологической симптоматики, более частым развитием разнообразных осложнений и, как следствие, более длительным

периодом госпитализации и заметно худшим функциональным восстановлением [1].

Среди основных факторов, которые определяют клиническую тяжесть инсультов, весомое значение занимает интенсивность локального и системного постинсультного воспалительного ответа. Провоспалительный цитокин – интерлейкин-6 (ИЛ-6) является одним из ключевых регуляторов интенсивности постинсультного воспалительного ответа через влияние на процессы синтеза и секреции острофазовых протеинов, хемокинов, молекул адгезии и т. д. Высокие уровни ИЛ-6 сыворотки крови в первые сутки после развития ишемического инсульта ассоциируются

* Цитування при атестації кадрів: Дельва М.Ю. Однонуклеотидный полиморфизм -174 G/C гена интерлейкина-6 при нелакунарных инсультах у пациентов с разной массой тела и его ассоциации с клинко-функциональными характеристиками заболевания // Проблемы экологии і медицини. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 3 – 8.

с вторичным постишемическим прогрессированием церебрального поражения и являются независимым прогностическим маркером как тяжести острого инсульта и вероятности развития ранних неврологических осложнений, так и долгосрочного функционального исхода [10].

Степень подъема ИЛ-6 крови при инсультах наиболее тесно коррелирует с объемом церебрального поражения [10]. Однако нами показано (работа находится в печати), что при условно одинаковых размерах церебральных инфарктов у пациентов с АО I-II степени (ст.) уровни ИЛ-6 достоверно увеличены как в 1-е, так и на 10-е сутки после развития инсульта, по сравнению с пациентами с нормальной массой тела. До сегодняшнего времени остается неизвестным источник значительного повышения уровня ИЛ-6 крови в остром периоде инсультов у пациентов с АО. У лептиндефицитных мышей с ожирением при экспериментальном ишемическом инсульте наблюдалась выраженная элевация уровня ИЛ-6 плазмы крови по сравнению с мышами контрольной группы. При этом содержание ИЛ-6 в мозге мышей с ожирением было ниже, чем в мозге мышей с нормальной массой тела, с чего авторы сделали предположение, что именно жировая ткань при ожирении является источником высокой концентрации ИЛ-6 плазмы крови при инсульте [11].

В последние годы, рядом работ было показано, что степень повышения концентрации ИЛ-6 при ишемических инсультах в большой степени детерминруется генетическими факторами. Экспрессия ИЛ-6 регулируется преимущественно на транскрипционном уровне, промотор гена ИЛ-6 (*IL-6*) содержит несколько однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), которые существенно влияют на транскрипцию гена. ОНП в промоторной зоне гена *IL-6* с заменой цитозина на гуанин в позиции 174 (-174 G/C) ассоциируется с изменениями концентрации ИЛ-6. При этом существуют противоречивые данные об этой ассоциации при ишемических инсультах, также как и об ассоциации между генотипом -174 G/C гена *IL-6* и клинико-функциональными особенностями ишемических инсультов [3, 12]. Противоречивость этих результатов может отображать как комплексность регуляторных процессов при постинсультном воспалительном ответе вообще, так и многогранность физиологии ИЛ-6 в частности, а также может быть следствием неоднородности исследованных групп пациентов, гетерогенности ишемических инсультов и т.д.

Возможно ОНП -174 G/C гена *IL-6* является одним из факторов более тяжелого клинического течения нелакунарных инсультов и более интенсивного постишемического системного воспалительного ответа у пациентов с АО.

Цель исследования: изучить распределение ОНП -174 G/C гена *IL-6* и определить его ассоциации с клиническим течением и функциональными последствиями нелакунарных инсультов у пациентов разных весовых категорий.

Материалы и методы исследования

В исследование включено 70 пациентов обоих полов (33 пациента с нормальной массой тела и 37 пациентов с АО II ст.) с нелакунарными (атеротромботическими и кардиоэмболическими) подтипами ишемических гемисферальных инсультов, госпитализированных в неврологическое отделение 1-й ГKB г.

Полтава в течение 1-х суток после начала заболевания.

Нелакунарный подтип инсульта был верифицирован с помощью методов нейровизуализации.

Известно, что клинические особенности ишемических инсультов и процессы постинсультного функционального восстановления определяются многочисленными факторами, среди которых наиболее важными являются возраст пациента, клиническая тяжесть инсульта при госпитализации (согласно шкалы инсультов Американского Национального института здоровья (NIHSS)), размер церебрального поражения, наличие предшествующих инсультов и сопутствующей патологии [14]. Поэтому, с целью максимально возможной унификации вышеперечисленных состояний, были отобраны пациенты с относительно одинаковыми показателями возраста (от 56 до 65 лет), клинической тяжести заболевания при госпитализации (от 5 до 10 баллов согласно шкалы NIHSS), размеров церебрального поражения (от 10 до 20 см³). Все пациенты не имели сахарного диабета и выраженной сопутствующей патологии (онкологические заболевания, судорожный синдром, болезни системы крови, выраженная сердечная, почечная, печеночная или дыхательная недостаточность, прогрессирующая стенокардия, острый инфаркт миокарда, сосудистая деменция, алкоголизм и т.д.). Кроме того, у пациентов в анамнезе не было эпизодов острой неврологической симптоматики (согласно медицинской документации), а данные нейровизуализации отрицали наличие ранее перенесенных ишемических нелакунарных инсультов.

Объем инфарктов мозга вычисляли на T-2 магнитно-резонансных томографических или компьютерно-томографических изображениях по формуле эллипсоида.

Масса тела пациентов измерялась механическими весами при госпитализации. В некоторых случаях вес устанавливался со слов родственников пациентов. С помощью сантиметровой ленты измеряли окружность талии (посредине расстояния между краем реберной дуги и гребнем бедренной кости) и окружность бедер (на уровне больших отростков бедренных костей). На основании антропометрических данных высчитывали индекс массы тела (ИМТ) – соотношение массы тела (в килограммах (кг)) к квадрату роста пациента (в метрах (м)). Характер распределения подкожной жировой клетчатки определяли соотношением окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ). Нормальная масса тела считалась при значениях ИМТ 18,5-24,9 кг/м². АО II ст. фиксировалось при значениях ИМТ более 35 кг/м² и при условии ОТ/ОБ более 0,9 у мужчин и более 0,85 у женщин.

В стационаре пациенты получали максимально унифицированную фармакотерапию (антиагреганты при атеротромботических инсультах, антикоагулянты при кардиоэмболических инсультах, а также гипотензивные и метаболические препараты, нейропротекторы, и т. д.), лечебную физкультуру, массаж. После выписки из стационара пациенты принимали гипотензивные и антиагрегантные препараты и продолжали реабилитационные мероприятия в амбулаторных условиях (лечебная физкультура, логопедические занятия и т.д.).

Анализ клинического течения инсультов проводили по шкале NIHSS на 10-е сутки пребывания в стационаре. С целью изучения постинсультных функ-

циональных дефектов определяли уровень функциональной независимости с помощью модифицированной шкалы Рэнкина (МШР). Исследование показателей МШР проводилось при выписке из стационара и через 12 недель после развития инсульта. По значениям МШР условно разделяли функциональные состояния пациентов на: «неинвалидирующие» (МШР \leq 2) – незначительна функциональная несостоятельность, пациент может самостоятельно себя обслуживать и «инвалидирующие» состояния (МШР $>$ 2) –пациент требует постоянной посторонней помощи в повседневной жизни.

Молекулярно-генетический анализ образцов крови был выполнен в лаборатории ООО «Гентрис ЛТД» г. Полтава (лиц. Министерства здравоохранения Украины АГ №597065). ДНК выделялась из лейкоцитов с помощью ионообменной смолы Челекс-100 [13]. Определение аллельного состояния гена *IL-6* по ОНП -174 G/C (rs1800795) проводили, как описано в работе испанских ученых [4]. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли на амплификаторе Терцик (ДНК-технология, Россия). Для амплификации фрагмента гена *IL-6*, который содержит полиморфный сайт 174 G/C, использованы олигонуклеотидные праймеры – прямой IL6174F: TGACTTCAGCTTTACTCTTTGT и обратный IL6174R: AATAGGTTTTGAGGGCCATG. Рестрикцию продуктов амплификации осуществляли с использованием эндонуклеазы *L**wa*I (*S**fa*NI) (MBI Fermentas, Литва). Продукты рестрикции анализиро-

вали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле в 1хTBE. В качестве маркера молекулярной массы была использована ДНК pUC19, гидролизованная эндонуклеазой *M**sp*I (MBI Fermentas, Литва). Визуализацию продуктов амплификации и рестрикции осуществляли путем покраски геля бромистым этидием и фотографированием на трансиллюминаторе в ультрафиолетовом свете.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета программ Statistika Excel. Проверку статистических гипотез о равенности частот аллелей в группах пациентов разных весовых категорий, равенство фактических распределений генотипов, а также фактического и теоретического (согласно равновесию Харди-Вайнберга) рядов проводили с помощью критерия χ^2 . Достоверность разницы частот встречаемости определенных функциональных последствий в зависимости от генотипа вычисляли с помощью точного критерия Фишера. Количественные результаты (показатели шкалы NIHSS) представлены в виде средней арифметической (*M*) и средней ошибки средней величины (*m*). При анализе количественных признаков оценка достоверности разницы между группами проводилась с использованием непараметрического *U* критерия Манна-Уитни. Значения $p < 0,05$ были приняты как статистически достоверные.

Результаты и их обсуждение

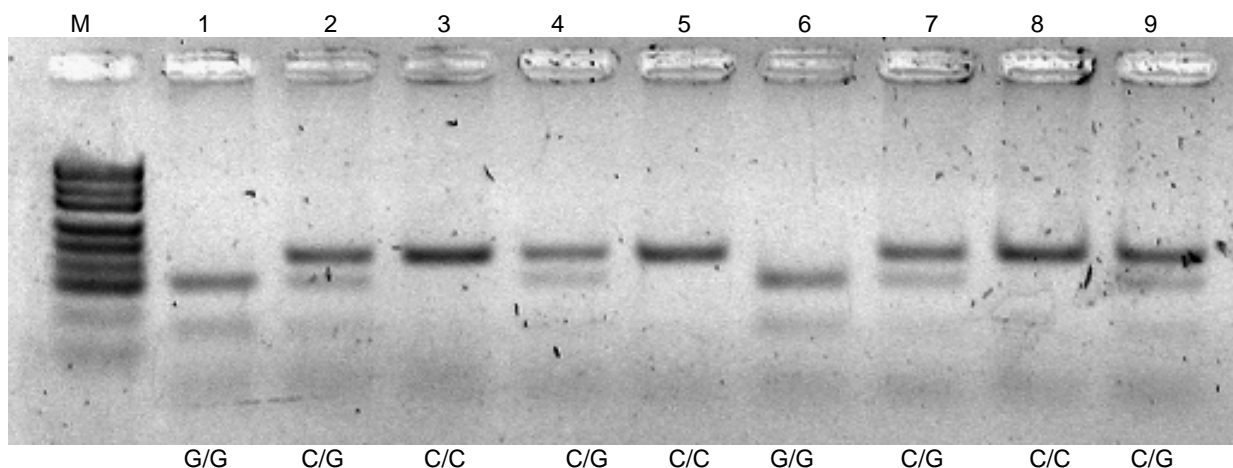


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР последовательности ДНК, генотипированная по ОНП -174 G/C гена *IL-6*: М – маркер молекулярной массы ДНК pUC19, гидролизованной эндонуклеазой *M**sp*I.; 1–9 – ДНК пациентов с нелакунарными инсультами и разными генотипами.

Рестрикционный фрагмент размером 164 пар нуклеотидов отвечает аллелю 174 С, два рестрикцион-

ные фрагменты размером 112 и 52 пар нуклеотидов отвечают 174 G аллелю гена *IL-6*.

Таблица 1
Частоты аллелей -174 G/C гена *IL-6* у пациентов разных весовых категорий с нелакунарными инсультами

Группа пациентов	Всего	Генотип			Частоты аллелей	Статистика
		G/G	G/C	C/C		
с нормальной массой тела	33	13	10	10	$p_G=0,55$; $p_C=0,45$	$\chi^2=4,57$; $df=1$; $\chi^2_{st}=3,84$; $p<0,05$
с АО II ст.	37	6	14	17	$p_G=0,35$; $p_C=0,65$	

n – количество пациентов; p_G и p_C – частоты аллелей G и C; χ^2 и χ^2_{st} – фактическое и пороговое значения критерия; *df* – число степеней свободы; *p* – уровень значимости.

Как видно из таблицы 1, при нелакунарных инсультах у пациентов с нормальной массой тела мажорным аллелем -174 G/C гена *IL-6* является G аллель, а у пациентов с АО II ст. – C аллель. При этом различие имеет статистическую достоверность. В ли-

тературе существуют разноречивые данные относительно связи ОНП -174 G/C гена *IL-6* с риском развития инсультов. В смешанной популяции пациентов США с церебро- и кардиоваскулярной патологией 174 C аллель ассоциировался с увеличением в 1,5 раза

вероятности наличия «немых» инфарктов мозга на МРТ [7]. А среди пациентов-итальянцев с инсультом в анамнезе 174 G аллель был мажорным (частота 66,5%), тогда как у лиц контрольной группы частота этого аллеля составляла только 47,3% [5]. По данным австрийских же исследователей отсутствует какая-либо связь между ОНП -174 G/C гена *IL-6* и риском развития ишемических инсультов [6].

Достоверное увеличение частоты аллеля 174 C у пациентов с АО II ст. может быть проявлением его

селективности относительно развития инсультов в этой весовой категории, а может быть (что более вероятно) проявлением общепопуляционных закономерностей – аллель C ассоциируется с ожирением. В частности, во французском и шведском наблюдениях 174 C аллель гена *IL-6* достоверно чаще встречался как у лиц с избыточной массой тела, так и у лиц с ожирением [15].

Таблица 2
Соотношение генотипов -174 G/C гена *IL-6* у пациентов разных весовых категорий с нелакунарными инсультами

Группы пациентов	G/G		G/C		C/C		Статистика
	n	%	n	%	n	%	
с нормальной массой тела	11	39,4	10	30,3	10	30,3	$\chi^2=8,73$; df=2; $\chi^2_{st}=5,99$; p<0,05.
с АО II ст.	6	16,2	14	37,8	17	46,0	

n – количество пациентов; χ^2 и χ^2_{st} – фактическое и пороговое значения критерия; df – число степеней свободы; p – уровень значимости.

Таблица 2 демонстрирует достоверное увеличение частоты C/C гомозигот, как и гетерозигот и, соответственно, уменьшение удельного веса G/G гомозигот при нелакунарных инсультах у пациентов с АО II ст., по сравнению с пациентами с нормальной массой тела. При анализе данного феномена надо учитывать особенности ОНП -174 G/C гена *IL-6* при ожирении. В частности, во французской популяции носители C/C генотипа достоверно чаще имели признаки АО [2], а у представителей немецкого этноса гомозиготное состояние C аллеля почти в 2 раза чаще ассоциирова-

лась с ожирением [8]. По данным шведских ученых у практически здоровых лиц с ИМТ более , чем 25 кг/м² генотип C/C встречался более чем в 2 раза чаще, а генотип G/C – почти в 2 раза чаще по сравнению с лицами, у которых показатель ИМТ был меньше 25 кг/м² [15]. На основании этих наблюдений авторы сделали предположение, что генетически детерминированная индивидуальная разница в продукции ИЛ-6 может быть каким-то образом ассоциированной с регуляцией массы жировой ткани.

Таблица 3
Структура популяции пациентов разных весовых категорий с нелакунарными инсультами по ОНП -174 G/C гена *IL-6*

Группы пациентов	Распределение генотипов	Генотип, %			Статистика	
		G/G	G/C	C/C		
с нормальной массой тела	фактическое	39,4	30,3	30,3	$\chi^2=15,31$; p<0,05.	df=2; $\chi^2_{st}=5,99$.
	теоретическое	29,7	49,7	20,6		
с АО II ст.	фактическое	16,2	37,8	46,0	$\chi^2=2,78$; p>0,05.	
	теоретическое	12,4	45,4	42,2		

% – доля в процентах; χ^2 и χ^2_{st} – фактическое и пороговое значения критерия; df – число степеней свободы; p – уровень значимости.

Таблица 3 показывает, что распределение генотипов в группе пациентов с АО II ст. отвечает равновесию Харди-Вайнберга и статистически значимо не отклоняется от него, тогда как у пациентов с нормальной массой тела распределение генотипов достоверно смещается от равновесного состояния к недостатку гетерозигот. Возможно, в украинской попу-

ляции гетерозиготное состояние -174 G/C гена *IL-6* у пациентов с нормальной массой тела является протективным фактором относительно развития нелакунарных инсультов. Однако это предположение требует дальнейшего подтверждения на более обширной группе пациентов.

Таблица 4
Динамика клинических показателей согласно шкалы NIHSS при нелакунарных инсультах в зависимости от весовой категории и ОНП -174 G/C гена *IL-6*

Группы пациентов		с АО II ст.			с нормальной массой тела		
		G/G	G/C	C/C	G/G	G/C	C/C
Сутки после инсульта	1-е	7,5±0,5	7,1±0,5	7,9±0,7	6,8±0,6	7,6±0,5	7,5±0,4
	10-е	5,5±0,6	5,5±0,4	5,4±0,3	4,9±0,5	3,5±0,3	3,4±0,3

* - достоверная разница в сравнении с носителями других генотипов среди пациентов с нормальной массой тела на 10-е сутки после развития инсульта (p<0,05).

Таблица 4 свидетельствует, что у пациентов с АО II ст. отсутствует какая-либо разница в клинических особенностях течения острого периода инсультов в зависимости от генотипа. У пациентов же с нормаль-

ной массой тела, при наличии ОНП 174 G/G гена *IL-6*, имеет место достоверно более тяжелое клиническое течение заболевания. Этот факт согласовывается с данными австрийского исследования о том, что носи-

тели 174 G/G генотипа имеют значительно худшие показатели шкалы NIHSS как во время госпитализации, так и через 1 неделю после развития инсульта [6]. Хотя в индийской популяции носители генотипа 174 G/G, наоборот, характеризовались наличием достоверно более легких инсультов при госпитализации

и более благоприятным течением острого периода заболевания [3], из чего авторы сделали вывод, что именно G/G генотип имеет протективные свойства при ишемических инсультах у представителей индийского происхождения [3].

Таблица 5

Частота развития «инвалидизирующих» состояний согласно МШР при нелакунарных инсультах в зависимости от весовой категории и генотипов -174 G/C гена IL-6

Срок наблюдения		при выписке				через 12 недель после инсульта			
Группа пациентов		с АО II ст.		с нормальной массой тела		с АО II ст.		с нормальной массой тела	
Значения МШР		≤2	>2	≤2	>2	≤2	>2	≤2	>2
Генотип	G/G	1	5	3	10	2	4	3*	10*
	G/C	3	11	4	6	6	8	8	2
	C/C	3	14	5	5	4	13	9	1

* - достоверная разница в сравнении с носителями других генотипов среди пациентов с нормальной массой тела через 12 недель после развития инсульта ($p < 0,05$).

Таблица 5 показывает, что у пациентов с нормальной массой тела наблюдается определенная структуризация частоты развития «выраженных» функциональных последствий в зависимости от генотипа: G/G гомозиготность -174 G/C гена IL-6 достоверно ассоциируется с повышенной частотой развития «инвалидизирующих» функциональных состояний. Подобная закономерность была зафиксирована и австрийскими авторами: носители 174 G/G генотипа характеризуются достоверно более частым «неудовлетворительным» восстановлением (в виде показателей МШР≥4) через 3 месяца после инсульта [6]. В то же время у пациентов индийской популяции носители G/G генотипа, наоборот, характеризовались более полным восстановлением функциональных способностей (согласно МШР и индекса Бартелла) как через 3, так и через 6 месяцев после развития инсульта [3].

Возможно, недостаточность процессов постинсультного восстановления у лиц с нормальной массой тела при гомозиготном -174 G/G состоянии гена IL-6 реализуются через степень экспрессии ИЛ-6, а возможно и через другие патофизиологические механизмы, ассоциированные с этим генотипом. Отсутствие же каких-либо закономерностей частоты формирования «инвалидизирующих» функциональных последствий в зависимости от генотипа при нелакунарных инсультах у пациентов АО II ст. можно, вероятно, объяснить слишком незначительными влияниями ОНП -174 G/C гена IL-6 на клинические особенности заболевания: липотоксичность (например, в базальном состоянии жировая ткань продуцирует более трети всего количества ИЛ-6 в организме [9]) исключает модулирующее влияние этого ОНП гена IL-6 на течение инсультов. То есть, в условиях АО II ст. провоспалительные факторы, ассоциированные с жировой тканью, вероятно нивелируют влияние генетической составляющей.

Выводы

1. При нелакунарных инсультах у пациентов с АО II ст. достоверно чаще встречается -174 С аллель гена IL-6 (достоверно повышена частота гетерозиготных состояний и гомозиготных С/С состояний), по сравнению с пациентами с нормальной массой тела.
2. У пациентов с нормальной массой тела G/G гомозиготность -174 G/C гена IL-6 достоверно ассоциируется с более тяжелым клиническим течением острого периода заболевания, а также с повышенной вероятностью развития «инвалидизирующих» функциональных состояний (МШР>2) через 12 недель после нелакунарных инсультов.

3. При АО II ст. не наблюдается каких-либо закономерностей клинического течения острого периода нелакунарных инсультов и формирования поздних «инвалидизирующих» функциональных последствий в зависимости от ОНП -174 G/C гена IL-6.

Литература

1. Литвиненко Н.В. Клініко-нейровізуалізаційні характеристики гострого періоду нелакунарних гемісферальних інсультів у осіб з ожирінням / Н.В. Литвиненко, М.Ю. Дельва, І.І. Дельва // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2011. – Т. 11, № 4 (36), ч. 1. – С. 55-58.
2. Berthier MT. The interleukin 6 -174G/C polymorphism is associated with indices of obesity in men / MT. Berthier, AM. Paradis, A. Tchernof [et al.] // Journal of Human Genetics. – 2003. – V. 48 (1). – P. 14-19.
3. Chakraborty B. Interleukin 6 -174 G/C promoter polymorphism predicts severity and outcome in acute ischemic stroke patients from north India / B. Chakraborty, D. Chowdhury, G. Vishnoi [et al.] // Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. – 2012. – [Epub ahead of print].
4. Fernández-Real JM. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects / JM. Fernández-Real, M. Broch, J. Vendrell [et al.] // Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2000. – V. 85(3). – P.1334-1339.
5. Flex A. Proinflammatory genetic profiles in subjects with history of ischemic stroke / A. Flex, E. Gaetani, P. Papaleo [et al.] // Stroke. – 2004. – V. 35 (10). – P. 2270-2275.
6. Greisenegger S. The (-174) G/C polymorphism in the interleukin-6 gene is associated with the severity of acute cerebrovascular events / S. Greisenegger, G. Endler, D. Haering [et al.] // Thrombosis Research. – 2003. – N. 110. – P. 181-186.
7. Jenny NS. In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G/C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease / NS. Jenny, RP. Tracy, MS. Ogg [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2002. – N. 22. – 2066-2071.
8. Klipstein-Grobusch K. Interleukin-6 g.-174G>C promoter polymorphism is associated with obesity in the EPIC-Potsdam Study / K. Klipstein-Grobusch, M. Mohlig, J. Spranger [et al.] // Obesity. – 2006. –N. 14. – P. 14-18.
9. Mohamed-Ali V. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo / V. Mohamed-Ali, S. Goodrick, A. Rawesh [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 1997. – N. 82. – P. 4196-4200.
10. Smith CJ. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome / C.J. Smith, HC. Emsley, CM. Gavin [et al.] // BMC Neurology. – 2004. – N. 4. – P. 2.
11. Terao S. Inflammatory and injury responses to ischemic stroke in obese mice / S. Terao, K. Yilmaz, K. Stokes // Stroke. – 2008. – V. 39(3). – P. 943-950.

12. Tso RA. Interleukin-6 174G/C Polymorphism and Ischemic Stroke: A Systematic Review / RA. Tso, JG. Merino, S. Warach // Stroke – 2007. – V. 38 (1). – P. 3070-3075.
13. Walsh PS. Chelex 100 as a medium for extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material / PS. Walsh, DA. Metzger, R. Higuchi // BioTechniques. – 1991. – N. 10. – P. 506-513.
14. Weimar C. Predicting functional outcome and survival after acute ischemic stroke / C. Weimar, A. Ziegler, IR. König [et al.] // Journal of Neurology. – 2002. – V. 249 (7). – P. 888-895.
15. Wernstedt I. A common polymorphism in the interleukin-6 gene promoter is associated with overweight / I. Wernstedt, AL. Eriksson, A. Berndtsson [et al.] // International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders. – 2004. – N. 28. – P. 1272-1279.

English version: SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF -174G/C INTERLEUKIN-6 GENE IN PATIENTS OF DIFFERENT WEIGHT CATEGORIES WITH NON-LACUNAR STROKES AND ITS ASSOCIATIONS WITH CLINICAL AND FUNCTIONAL STROKE OUTCOMES*

Delva M. Yu.

Ukrainian Medical Stomatological Academy (Poltava, Ukraine)

We studied the single nucleotide polymorphisms (SNP) distribution of -174 G/C interleukin-6 gene (IL-6) and determined its associations with functional outcomes after non-lacunar stroke in 33 patients with normal body weight and in 37 patients with abdominal obesity (AO) II class. The study has involved patients of similar age (56 to 65 years), with the similar clinical disease severity on admission (5-10 points according to NIHSS scale), with relatively similar cerebral lesion volumes (from 10 to 20 cm³), without diabetes mellitus and severe co-morbidity. Abdominally obese patients II class with non-lacunar strokes have significantly more common 174 C allele of the IL-6 gene compared with patients with normal body weight (65% versus 45%, $p < 0.05$). In patients with normal body weight G/G genotype of -174 G/C gene IL-6 was significantly associated with more severe acute stroke an increased rate of late "disabling" functional states (values of modified Rankin scale more than 2 points) in 12 weeks after stroke. AO II class hasn't any patterns of clinical and functional outcomes distribution depending on SNP -174 G/C gene IL-6.

Key words: ischemic non-lacunar stroke, abdominal obesity, interleukin-6, gene, -174 G/C single nucleotide polymorphism.

This study is a fragment of the planned research activity of neurological department with neurosurgery and medical genetics "Ukrainian Medical Stomatological Academy" "Optimization and pathogenetic substantiation of diagnostic and treatment methods of neurovascular and neurodegenerative diseases with regard to clinical and hemodynamic, hormonal, metabolic, genetic and immuno-inflammatory factors" (state registration number 0111U006303).

Introduction

In recent years in scientific literature has emerged a lot of scientific reports which prove independent and significant influences of obesity on acute ischemic strokes and functional outcome. In particular, in previous works we demonstrated that obese patients (especially with abdominal obesity) had a more severe strokes, more frequent development of various post-stroke complications and, consequently, longer hospital stay and worse functional outcome [1].

Among the key factors that may determine the clinical severity of stroke, great importance has the intensity of local and systemic post-ischemic inflammatory response. Proinflammatory cytokine - interleukin-6 (IL-6) is one of the key regulators of post-ischemic inflammatory response intensity through the influence on the synthesis and secretion of acute-phase proteins, chemokines, adhesion molecules, etc. High serum IL-6 level in the first days after ischemic stroke onset is associated with the

progression of secondary post-ischemic cerebral injury and is an independent predictor of acute stroke severity as well as early neurological complications and long-term functional outcome [10].

The degree of IL-6 blood elevation at acute stroke is closely correlated with the cerebral lesion volumes [10]. However, we had defined (the article in press), that under conditions of similar cerebral lesions volumes, abdominally obese patients (I-II obesity class) have significantly increased IL-6 blood levels at 1st as well as at 10th day after stroke onset compared with normal weight patients.

But the source of a significant IL-6 serum in abdominally obese patients under conditions of acute ischemic stroke still remains unknown.

Leptin deficient obese mice, compared with wild-type ones, have significantly elevated serum IL-6 after experimental ischemic stroke. Because brain tissue level of IL-6 was decreased in post-ischemic obese mice compared with wild-type animals, authors suggested that in

* * To cite this English version: Delva M. Yu.. Single nucleotide polymorphism of -174g/c interleukin-6 gene in patients of different weight categories with non-lacunar strokes and its associations with clinical and functional stroke outcomes // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 8 - 12.

acute stroke just adipose tissue is a major source of serum IL-6 [11].

In recent years, a number of investigations had shown that the degree of increase in IL-6 concentration in patients with ischemic stroke is largely determined by genetic factors. Expression of IL-6 is mainly regulated at the transcriptional level, gene promoter of IL-6 comprises several single nucleotide polymorphisms (SNP), which significantly affects the gene transcription. SNP in the promoter region of IL-6 gene as substitution of cytosine to guanine at position 174 (-174 G/C) is associated with changes in IL-6 blood concentration. There are conflicting scientific data about these associations with ischemic stroke, as well as about associations between genotype -174 G/C and clinical and functional features of ischemic stroke [3, 12]. Inconsistency of above mentioned results may reflect the regulatory processes' complexity in post-stroke inflammatory response, diversity of IL-6 physiology, may be a consequence of heterogeneity of the studied patients groups, as well as ischemic strokes, etc. Perhaps, the -174 G/C SNP of the IL-6 gene is one of the factors that could determine more severe non-lacunar strokes and more intensive post-ischemic inflammatory response in abdominally obese patients.

Purpose of the study was to identify the distribution of -174 G/C SNP of the IL-6 gene and to determine associations between this SNP and clinical features, as well as functional outcomes of non-lacunar strokes in patients of different weight categories.

Materials and methods

In the study we have recruited 70 subjects of both genders (33 patients with normal body weight and 37 patients with class 2 abdominal obesity) with acute ischemic non-lacunar (atherothrombotic and cardioembolic subtypes) hemispheric strokes. All patients were admitted to Poltava city hospital not later than 24 hours after stroke onset.

Non-lacunar stroke subtype was verified by neuro-visualization.

Peculiarities of acute ischemic stroke and post-stroke functional outcome are determined by numerous factors, among which the most important are the patient's age, stroke severity at admission (according to National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)), the size of the cerebral lesion, previous strokes, and co-morbidities [14]. Therefore, to unify above mentioned conditions we had selected patients with relatively similar age (from 56 to 65 years), similar disease's severity at admission (from 5 to 10 points according to NIHSS), similar cerebral lesion size (from 10 to 20 cm³). Patients didn't have diabetes mellitus and severe co-morbidities that could influence of neurological and functional recovery (oncological diseases, convulsive syndrome, hematological diseases, cardiac, liver, kidney and respiratory insufficiencies, progressive angina pectoris, acute myocardial infarction, vascular dementia, alcoholism, etc). Moreover, patients didn't have acute neurological episodes (according to medical records) and didn't have neuroimaging signs of previously unrecognized non-lacunar strokes.

Cerebral lesion volume was estimated by calculating the approximate volume of an ellipsoid on computed tomography brain scans or T-2 weighted magnetic resonance imaging brain scans.

Patient's body weight was determined with mechanical weights during hospitalization. In severe cases, body weight was measured after patient improvement, or according to patient's relatives. Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by the square of height in meters. Body weight categories were formed on the basis of BMI: normal body weight - BMI 20.0-24.9 kg/m², obesity class II - BMI >35.0 kg/m². Waist-to-hip ratio (WHR) was calculated as a measure of abdominal obesity. Waist circumference was measured with a soft tape midway between the lowest rib and the iliac crest. Hip circumference was measured over the widest part of the gluteal region. According to World Health Organization criteria, WHR >0.9 in men and >0.85 in women were denoted abdominal obesity.

In hospital stroke patients received uniform therapy (antiplatelet drugs for atherothrombotic stroke, anticoagulant drugs for cardioembolic stroke, hypotensive, metabolic, nootropic drugs, etc), physiotherapy, and massage. After hospital discharge patients took antihypertensive, antiplatelet drugs and continued outpatient rehabilitation services (physiotherapy, speech therapy, etc.).

The picture of stroke clinical has been analyzed by NIHSS score at the 10th day of hospital stay. Post-stroke functional outcomes were evaluated by modified Rankin scale (mRS). We had dichotomized functional outcome: favorable - mRS ≤2 (patient able to look after own affairs without assistance) versus unfavorable - mRS >2 (patient requires assistance in daily life).

Molecular genetic analysis was performed in a laboratory «Gentrees LTD» (Poltava). DNA was extracted from white blood cells using ion exchange resin Chelex-100 [13]. Determination of allelic status of -174 G/C SNP of the IL-6 gene (rs1800795) was performed as it had been described by Spanish scientists [4]. Polymerase chain reaction (PCR) was performed in the thermocycler Tertsik (DNA-Technology, Russia).

To amplify the fragment of IL-6 gene, which contains the polymorphic site 174 G/C, oligonucleotide have been used primers - direct IL6174F: TGACTTCAGCTTTACTCTTTGT and reverse IL6174R: AATAGGTTTTGAGGGCCATG. Restriction of the amplification products was performed using endonuclease *L*wel (*S*faNI) (MBI Fermentas, Lithuania). Restriction materials were analyzed by electrophoresis in 2% agarose gel in 1xTBE. As molecular weight marker it had been used DNA pUC19, which was hydrolysed by endonuclease *M*spl (MBI Fermentas, Lithuania). Visualization of amplification and restriction products was performed by gel dyeing with ethidium bromide and photographing in ultraviolet light transilluminator.

Statistical processing of the results was performed by means of software package Statistika Excel. Distributions of allele frequencies in different weight body groups, equality of the actual distribution of genotypes, as well as the actual and theoretical ones (according to Hardy-Weinberg equilibrium) were analyzed using the criterion χ^2 . Comparison of functional outcomes rates depending on the genotype was calculated using Fisher's exact test. Quantitative data (NIHSS score) is shown as mean (M), standard error of mean (m). Data from patients were analyzed using the Mann-Whitney *U* test for the comparison of continuous variables. P-value less 0.05 was taken to indicate statistical significance.

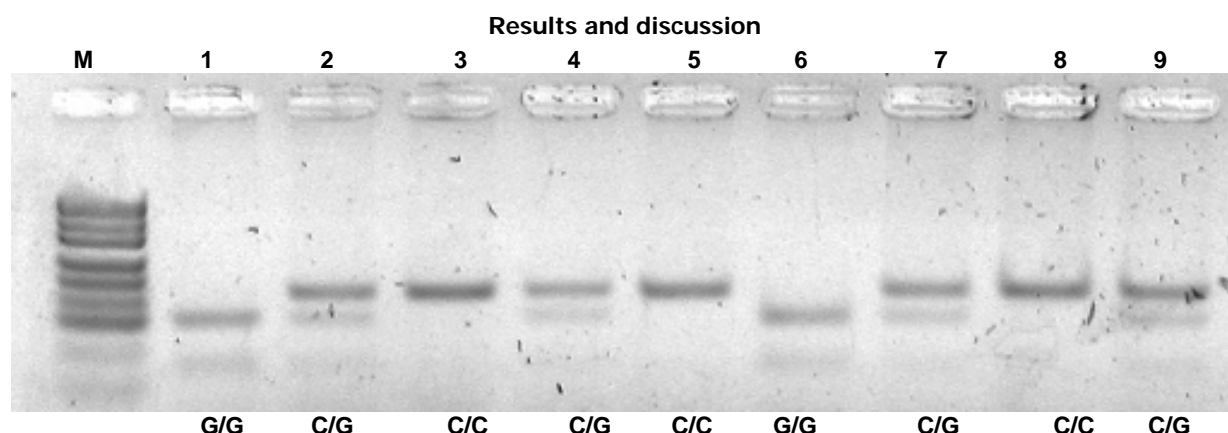


Fig. 1. Electrophoretogram of PCR products genotyped by SNP -174 G/C IL-6 gene: M - molecular weight marker DNA pUC19, hydrolyzed by endonuclease MspI.; 1-9 - DNA of patients with non-lacunar stroke and different genotypes.

Restriction fragment of 164 nucleotides pairs matches 174 C allele, the two restriction fragments of 112 and 52 nucleotides pairs matches 174 G allele of the IL-6 gene.

Table 1

Allele frequencies of SNP -174 G/C of the IL-6 gene in patients of different weight categories with non-lacunar stroke

Patients group	Totally	Genotype			Allele frequencies	Statistics
		G/G	G/C	C/C		
normal body weight	33	13	10	10	$p_G=0,55$; $p_C=0,45$	$\chi^2=4,57$; df=1;
abdominal obesity 2 class	37	6	14	17	$p_G=0,35$; $p_C=0,65$	$\chi^2_{st}=3,84$; $p<0,05$

n – the number of patients; p_G u p_C – frequencies of G-allele and C-allele; χ^2 u χ^2_{st} – actual and threshold criterion value; df – the number of steps of freedom; p – significance level.

The table 1 shows, in normal weight patients with non-lacunar stroke G-allele is major allele, but in abdominally obese patients major allele is C-allele; and this difference has statistical significance. In literature there are contradictory data about relations between -174 G/C SNP of the IL-6 gene and risk of stroke. In mixed population of US patients with cardiovascular and cerebrovascular pathology, presence of the -174C allele was associated with risk of «silent» MRI infarcts (odds ratio 1.5) [7]. Among Italian patients with stroke history, 174 G allele was major (66.5%), whereas in the control group the

frequency of this allele was only 47.3% [5]. According to Austrian researchers, there are no links between -174 G/C SNP of the IL-6 gene and risk of ischemic stroke [6]. The significant increase of allele 174 C frequency in a abdominally obese patients may be a manifestation of its selectivity towards stroke risk, and maybe (that is more likely) a manifestation of the general population patterns – C-allele is associated with obesity. In particular, in French and Swedish populations 174 C allele of IL-6 gene was significantly more common in overweight and obese people [15].

Table 2

Ratio of -174 G/C IL-6 genotypes in patients of different weight categories with non-lacunar stroke

Patients group	G/G		G/C		C/C		Statistics
	n	%	n	%	n	%	
normal body weight	11	39,4	10	30,3	10	30,3	$\chi^2=8,73$; df=2;
abdominal obesity 2 class	6	16,2	14	37,8	17	46,0	$\chi^2_{st}=5,99$; $p<0,05$.

n – the number of patients; χ^2 u χ^2_{st} – actual and threshold criterion value; df – the number of steps of freedom; p – significance level.

Table 2 shows the significant increase of C/C homozygotes and heterozygotes frequency and, thus reducing the proportion of G/G homozygote among abdominally obese patients with non-lacunar strokes in comparison with normal weight patients. In the analysis of this phenomenon it is necessary to take into account the peculiarities -174 G/C SNP of the IL-6 gene in obese humans. In particular, C/C genotype had significantly associations with abdominal obesity in French and German popula-

tions [2, 8]. According to Swedish scientists, there were significant odds ratios for the association of CC (2.13) and GC (1.76) genotypes with overweight (BMI>25 kg/m²) in healthy humans [15]. Genetically determined individual differences in production of IL-6 may be relevant for the regulation of body fat mass. Based on these observations, the authors concluded that genetically determined individual differences in production of IL-6 may be relevant for the regulation of body fat mass.

Table 3
Structure of the population of patients with different weight and non-lacunar strokes according to -174 G/C SNP of the IL-6 gene

Patients group	The distribution of genotypes	Genotype, %			Statistics	
		G/G	G/C	C/C		
normal body weight	actual	39,4	30,3	30,3	$\chi^2=15,31$; p<0,05.	$\chi^2_{st}=5,99$.
	theoretical	29,7	49,7	20,6		
abdominal obesity 2 class	actual	16,2	37,8	46,0	$\chi^2=2,78$; p>0,05.	
	theoretical	12,4	45,4	42,2		

% – percentages; χ^2 и χ^2_{st} – фактическое и пороговое значения критерия; df – число степеней свободы; p – уровень значимости.

Table 3 shows that the distribution of genotypes in abdominally obese patients corresponds to the Hardy-Weinberg equilibrium and doesn't significantly deviate from it. Whereas in normal body weight patients distribution of genotypes is significantly deviates from this equilibrium to a lack of heterozygotes. Perhaps, in the Ukrain-

ian population the heterozygous state of -174 G/C IL-6 genes in normal body weight patients is a protective factor regarding the non-lacunar strokes. However, this assumption needs to be further confirmed in a more extensive group of patients.

Table 4
Dynamics of the NIHSS score at acute non-lacunar strokes in patients with different weight and -174 G/C SNP of the IL-6 gene

Patients group		Abdominal obesity 2 class			Normal body weight		
Genotype		G/G	G/C	C/C	G/G	G/C	C/C
Day after stroke	1 st	7,5±0,5	7,1±0,5	7,9±0,7	6,8±0,6	7,6±0,5	7,5±0,4
	10 th	5,5±0,6	5,5±0,4	5,4±0,3	4,9±0,5	3,5±0,3	3,4±0,3

* - significant difference in comparison with other genotypes carriers among normal body weight patients at 10th post-stroke day ($p<0,05$).

Table 4 shows that in patients with abdominal obesity 2 class there is no difference in the clinical features of acute stroke, depending on the genotype. In normal body weight patients with -174 G/C SNP of the IL-6 gene there is a more severe clinical course of the disease. This fact is consistent with results of the Austrian study that 174 G/G genotype carriers have a significantly worse NIHSS

score on admission and at 1st week after stroke onset [6]. Although in the Indian population genotype 174 G/G, on the contrary, had been characterized by a significantly milder strokes at admission and more favorable course of the acute stroke [3], and authors had concluded that G/G genotype has protective effects against ischemic stroke [3]

Table 5
The rate of "disabling" states according to mRS after non-lacunar strokes depending on the weight categories and genotype of -174 G/C IL-6 gene

The observation period		at hospital discharge				12 weeks after stroke			
Patients group		abdominal obesity 2 class		normal body weight		abdominal obesity 2 class		normal body weight	
mRS		≤2	>2	≤2	>2	≤2	>2	≤2	>2
Genotype	G/G	1	5	3	10	2	4	3*	10*
	G/C	3	11	4	6	6	8	8	2
	C/C	3	14	5	5	4	13	9	1

* - significant difference in comparison with other genotypes carriers in normal body weight patients at 12 weeks after stroke ($p<0,05$).

Table 5 shows that in normal body weight patients there is a certain structuring of functional consequences depending on the genotype: G/G homozygous state of -174 G/C IL-6 gene was significantly associated with an increased incidence of "disabling" functional outcomes. A similar pattern was recorded by Austrian authors, carriers of 174 G/G genotype had significantly more often "poor" functional outcome (as mRS ≥ 4) at 3 months after stroke [6]. At the same time, in the Indian population, carriers of G/G genotype, by contrast, had «complete» recovery of functional ability (according mRS and index Barthel) at 3 and 6 months after stroke [3].

Perhaps the lack of post-stroke functional recovery in normal-weight and -174 G/G homozygous patients are realized through the levels of IL-6 expression, and, possibly through other pathophysiological mechanisms which are associated with this genotype. The absence of any regularity between functional outcomes rate and genotype in abdominally obese patients may be explained, at least partially, by too little effects of -174 G/C SNP of the IL-6 gene on the clinical stroke features: lipotoxicity (for

example, at the basal state, adipose tissue produces more than a third of the whole IL-6 amount in the body [9]) eliminates the modulating clinical effect of this SNP. Under conditions of abdominal obesity, proinflammatory factors associated with adipose tissue probably negate the effect of the genetic component.

Conclusions

1. Abdominally obese patients 2 class with non-lacunar strokes have significantly more common 174 C allele of the IL-6 gene (increase of heterozygous and homozygous states) compared with patients with normal body weight.

2. In patients with normal body weight G/G genotype of -174 G/C IL-6 gene was significantly associated with more severe acute stroke, and an increased rate of late "disabling" functional states (values of mRS more 2 points) in 12 weeks after non-lacunar stroke.

3. Abdominally obese patients 2 class do not have any patterns of clinical and functional outcomes distribu-

tion after non-lacunar stroke depending on -174 G/C SNP of the IL-6 gene.

References

1. Litvinenko N.V. Kliniko-neyrovizualizatsiyni charakteristiki gostrogo periodu nelakunarnich gemisferal'nich insul'tiv u osib z ozhirinnyam / N.V. Litvinenko, M.Yu. Del'va, I.I. Del'va // Aktual'ni problemi suchasnoi medizini: Visnik Ukraïns'koï medichnoi stomatologichnoi akademii. – 2011. – T. 11, № 4 (36), ch. 1. – S. 55-58.
2. Berthier MT. The interleukin 6 -174G/C polymorphism is associated with indices of obesity in men / MT. Berthier, AM. Paradis, A. Tchernof [et al.] // Journal of Human Genetics. – 2003. – V. 48 (1). – P. 14-19.
3. Chakraborty B. Interleukin-6 gene -174 G/C promoter polymorphism predicts severity and outcome in acute ischemic stroke patients from north India / B. Chakraborty, D. Chowdhury, G. Vishnoi [et al.] // Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases. – 2012. – [Epub ahead of print].
4. Fernández-Real JM. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects / JM. Fernández-Real, M. Broch, J. Vendrell [et al.] // Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2000. – V. 85(3). – P.1334-1339.
5. Flex A. Proinflammatory genetic profiles in subjects with history of ischemic stroke / A. Flex, E. Gaetani, P. Papaleo [et al.] // Stroke. – 2004. – V. 35 (10). – P. 2270–2275.
6. Greisenegger S. The (-174) G/C polymorphism in the interleukin-6 gene is associated with the severity of acute cerebrovascular events / S. Greisenegger, G. Endler, D. Haering [et al.] // Thrombosis Research. – 2003. – N. 110. – P. 181–186.
7. Jenny NS. In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G/C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease / NS. Jenny, RP. Tracy, MS. Ogg [et al.] // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2002. – N. 22. – 2066–2071.
8. Klipstein-Grobusch K. Interleukin-6 g.-174G>C promoter polymorphism is associated with obesity in the EPIC-Potsdam Study / K. Klipstein-Grobusch, M. Mohlig, J. Spranger [et al.] // Obesity. – 2006. –N. 14. – P. 14-18.
9. Mohamed-Ali V. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo / V. Mohamed-Ali, S. Goodrick, A. Rawesh [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 1997. – N. 82. – P. 4196–4200.
10. Smith CJ. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome / C.J. Smith, HC. Emsley, CM. Gavin [et al.] // BMC Neurology. – 2004. – N. 4. – P. 2.
11. Terao S. Inflammatory and injury responses to ischemic stroke in obese mice / S. Terao, K. Yilmaz, K. Stokes // Stroke. – 2008. – V. 39(3). – P. 943-950.
12. Tso RA. Interleukin-6 174G/C Polymorphism and Ischemic Stroke: A Systematic Review / RA. Tso, JG. Merino, S. Warach // Stroke – 2007. – V. 38 (1). – P. 3070-3075.
13. Walsh PS. Chelex 100 as a medium for extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material / PS. Walsh, DA. Metzger, R. Higuchi // BioTechniques. – 1991. – N. 10. – P. 506-513.
14. Weimar C. Predicting functional outcome and survival after acute ischemic stroke / C. Weimar, A. Ziegler, IR. König [et al.] // Journal of Neurology. – 2002. – V. 249 (7). – P. 888-895.
15. Wernstedt I. A common polymorphism in the interleukin-6 gene promoter is associated with overweight / I. Wernstedt, AL. Eriksson, A. Berndtsson [et al.] // International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders. – 2004. – N. 28. – P. 1272–1279.

Матеріал надійшов до редакції 29.04.2013 р.

© Ждан В.М., Штомпель В.Ю.
УДК: 616.13/14:616-001.28

СУДИННА ПАТОЛОГІЯ У ЛІКВІДАТОРІВ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС: ФОРМУВАННЯ, МАНІФЕСТАЦІЯ, ПРОГРЕСУВАННЯ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ І ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ*

Ждан В.М., Штомпель В.Ю.

Вищий державний навчальний заклад України "Українська медична стоматологічна академія", м.Полтава

Сосудистая патология продолжает занимать ведущее место в структуре заболеваемости ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и в отдаленном периоде после катастрофы. Это определяет необходимость изучения основных патогенетических механизмов заболеваний, возникших под воздействием комплекса повреждающих факторов. В статье показано, что у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС наблюдаются изменения показателей гипоталамико-тиреоидно-надпочечниковых гормонов, сдвиги в системе липопероксидации и антиоксидантной защиты, вегетативной и иммунной регуляции. Эти факторы определяют активность компенсаторно-приспособительных процессов организма. Авторами установлено, что у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС адаптационные функции гипоталамико-тиреоидно-надпочечниковой системы угасают с ростом тяжести патологии от функциональной (ДЭ 1-й степени) до органической (ИБС, ДЭ 2-й степени), а при сочетании ИБС и ДЭ - в значительной степени истощаются. В системе свободно-радикального окисления липидов у этих больных усиливаются процессы липопероксидации, а также имеет место компенсаторное напряжение системы антиоксидантной защиты, активность которой при сочетанной патологии заметно снижается. Прослеживается зависимость клинических проявлений заболеваний, гормонально-метаболических изменений, состояния центральной и периферической гемодинамики от направленности вегетативной регуляции и патогенетических механизмов ее нарушений. С ростом тяжести сосудистой и сопутствующей сегментарной и надсегментарной вегетативной патологии у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС наблюдается падение мощности вегетативной регуляции системы кровообращения со сдвигом баланса в сторону парасимпатического звена и разбалансированием вегетативной обеспеченности деятельности. Таким образом, формирование, манифестация и прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний под воздействием комплекса повреждающих факторов имеют в своей основе патологические изменения, обусловленные снижением активности компенсаторно-приспособительных процессов организма, и соответственно требуют коррекции.

Ключевые слова: гормоны, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, вегетативная нервная система, ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС.

Динаміка захворюваності ліквідаторів наслідків однієї з найбільших техногенних катастроф у світі - аварії на ЧАЕС – характеризувалась поступовим зростанням, починаючи з 1989-1990 рр. На першому етапі формувались функціональні синдроми: вегетосудинної дистонії, астеничний, астено-невротичний та ін. В подальшому ця патологія реалізувалась в організму: гіпертонічну хворобу (ГХ), дисциркуляторну енцефалопатію (ДЕ), ішемічну хворобу серця (ІХС). Більшість авторів пов'язують цей процес з дією комплексу пошкоджуючих факторів, які впливали на організм людини в умовах ліквідації наслідків аварії в Чорнобилі. Слід відзначити, що хвороби системи кровообігу продовжують займати провідне місце в структурі захворюваності ліквідаторів і у віддаленому від часу катастрофи періоді [4,7,10,12]. Безумовно важливим є вплив загальновідомих чинників розвитку судинної патології у даній популяції [10,16,19]. Однак, не можна виключити і дію обмежених адаптаційних можливостей, дисрегуляції багатьох механізмів, здатних привести не тільки до швидкого формування, а й прогресування захворювань.

Ми проводили обстеження ліквідаторів наслідків аварії (ЛНА) на ЧАЕС, більшість з яких працювала там у 1986-1987 р.р., коли крім променевого чинника

(доза зовнішнього рівномірного гамма-опромінювання пацієнтів складала, за даними райвійськкоматів, від 5 до 50 бер - в середньому 18,5, відомості були 85% обстежених), на організм людини діяли хімічно агресивні речовини, які використовувалися для пилопридушення і деактивації поверхонь, а також хронічний стрес, що мав пролонгований характер (тим більше в умовах об'єктивної ситуації, котра постійно змінювалась) і вплив якого здатний порушувати мотиваційну сферу особистості [6]. Наслідком дії даного комплексу пошкоджуючих факторів може бути порушення загальних адаптаційних реакцій, що знижує процеси пристосування до несприятливих впливів, а в ряді випадків приводить до розвитку патологічних розладів [2]. В основі зриву компенсаторно-приспосовувальних процесів лежать відповідні зміни гіпоталамико-тиреоїдно-наднирковозалозної системи, процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), системи антиоксидантного захисту (САОЗ), імунного статусу, гемостазу [11,15,18].

Актуальною для ЛНА на ЧАЕС є проблема вегетативних дисфункцій як одного із провідних механізмів дисадаптації [3,13,17]. Сегментарні і надсегментарні вегетативні центри здійснюють вплив на функціональний стан багатьох систем і органів людини, важливою є їх роль в регуляції кровообігу. Клінічні спосте-

* Цитування при атестації кадрів: Ждан В.М., Штомпель В.Ю. Судинна патологія у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС: Формування, маніфестація, прогресування. Огляд літератури і власних досліджень. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 13 – 16.

реження переконливо свідчать на тісний взаємозв'язок нервової системи, неспецифічної резистентності та імуногенезу. Показано виникнення супресій імунних реакцій у людини при стресах [9,18]. Проведені дослідження на імуносимплектомованих тваринах показали, симпатичний відділ вегетативної нервової системи (ВНС) являється еферентною ланкою регуляції імунних реакцій. Пригнічення адренергічних механізмів супроводжується подавленням специфічної реакції на антиген. Симпатична нервова система стимулює функції лімфоїдної тканини, а катехоламіни є медіаторами, що активують лейкоцити і фагоцити. Регулюючий вплив катехоламінів на імунні реакції реалізуються через адренорецептори [9,29].

Клінічні спостереження підтверджують невід'ємність дисфункції ВНС і гормонального гомеостазу [23,24]. Показано, що прогресування судинної патології у ЛНА на ЧАЕС від функціональної (ДЕ 1-го ст.) до органічної (ІХС- стабільна стенокардія напруж II-III ФК, ДЕ 2-го ст.) супроводжувалося змінами гіпофізарно-тиреоїдно-надниркової системи, причому її адаптаційні функції неухильно згасали, а при поєднаній патології (ІХС та ДЕ 2-го ст.)- значною мірою виснажувались [22]. Так, найвищий рівень кортизолу спостерігався при ДЕ 1-го ст. ($943,56 \pm 34,48$ нмоль/л), тоді як у хворих на ІХС, ДЕ 2-го ст. він був вірогідно знижений ($548,37 \pm 27,61$ та $461,47 \pm 21,34$ нмоль/л відповідно, $p_1 < 0,01$, $p_2 < 0,01$). Отже, тривале напруження компенсаторно-приспосувальних процесів з часом може привести до виснаження основних механізмів адаптації. У групі хворих з поєднанням ІХС та ДЕ 2-го ст., перебіг якого відзначався більш вираженою клініко-біохімічно-функціональною тяжкістю, рівень кортизолу був вірогідно знижений ($287,38 \pm 16,56$ нмоль/л) порівняно не тільки з показниками хворих на ДЕ 1-го ст. ($p_1 < 0,01$), а також з показниками хворих на ІХС ($p_2 < 0,01$) та ДЕ 2-го ст. ($p_3 < 0,01$). Паралельно відмічено зміни вегетативного реагування організму хворих. Аналіз потужності спектру нейрогуморальної регуляції серцевого ритму [5] у досліджених ЛНА на ЧАЕС виявив його зниження з ростом тяжкості патології (при ДЕ 1-го ст. - 2367 ± 1706 мс², при ІХС - 1737 ± 1241 мс², ДЕ 2-го ст. - 1737 ± 1241 мс², ІХС в поєднанні з ДЕ 2-го ст. - 531 ± 314 мс²) зі зсувом балансу регуляції в бік парасимпатичної ланки.

Подібно до показників кортизолу у групах хворих була динаміка рівня трийодтироніну (при ДЕ 1-го ст. $2,4 \pm 0,16$ нмоль/л, при ІХС - $2,13 \pm 0,07$, при ДЕ 2-го ст. - $1,69 \pm 0,17$, при ІХС + ДЕ 2-го ст. - $1,41$ нмоль/л - $p_1 < 0,01$, $p_2 < 0,01$, $p_3 < 0,05$). Рівень тиреотропного гормону змінювався статистично невірогідно.

Підвищення гіпофізарно-тиреоїдно-надниркової та симпато-адреналової активності – найважливіших компонентів адаптаційної системи організму людини відіграє важливу захисну роль. Але тривале напруження цих механізмів з часом може стати пошкоджуючим фактором, здатним порушити кровопостачання системи і органів, знизити імунітет і сприяти трансформації функціональних судинних порушень у тяжкі форми судинної патології – ІХС, ДЕ, ГХ. Не виключено, що дані захворювання, сформовані на тлі пролонгованого стресу, впливають на депресію компенсаторно – пристосувальних процесів, на що вказує зниження в нашому дослідженні показників кортизолу, трийодтироніну у хворих на ІХС, ДЕ 2-го ст. та з їх поєднанням.

Слід визначити, що у хворих на ІХС і ДЕ, які не брали участі у ліквідації аварії на ЧАЕС, динаміка рівнів кортизолу і трийодтироніну з ростом тяжкості патології була протилежною – вони підвищувалися. Спостерігався вищий рівень кортизолу: у хворих на ІХС – у 1,4 на ДЕ 2-го ст. – у 1,5, а на ІХС в асоціації з ДЕ 12-го ст. – у 2 рази, ніж у хворих на ДЕ 1-го ст. Зміни рівня трийодтироніну характеризувалися такою ж спрямованістю.

Пролонгований стрес і наявність судинної патології у ЛНА на ЧАЕС призводять також до активації процесів ПОЛ і напруження САОЗ, яка поступово виснажується в міру прогресування судинних розладів [22,24]. Це зумовлює ушкодження клітинних мембран, порушення мікроциркуляції, реологічних властивостей крові, імунітету і ускладнює перебіг захворювання. У хворих на ІХС та ДЕ, які не брали участі в ліквідації наслідків аварії, також виявлено підвищення активності прооксидантної системи, але на фоні напруження САОЗ відповідно до тяжкості патології.

Нами досліджувались особливості перебігу ІХС у ЛНА на ЧАЕС на тлі тиреоїдно-вегетативних дисфункцій [23]. Відомо, що ІХС ускладнюється порушенням ВНС [3,20,21,28,30]. Важливим є їх значення для виникнення летальних аритмій [8], безбольової ішемії міокарда [14], раптової смерті [27].

При порівнянні параметрів функціонального стану ВНС і щитоподібної залози (ЩЗ) простежена залежність між характером вегетативних реакцій і концентрацією тиреоїдних гормонів: симпатикотонії відповідає їх підвищення парасимпатикотонії – зниження. Звертала увагу також відсутність належної відповіді центральних регуляторних механізмів на динаміку тиреоїдних гормонів (при порівнянні показників тиреотропного гормону у хворих як з підвищенням, так із зниженням їх рівнем, $p > 0,5$), що може сприяти поглибленню тиреоїдних дисфункцій.

У хворих з підвищеними показниками тиреоїдних гормонів спостерігалось переважно зростання вегетативної реактивності (ВР), вегетативного забезпечення діяльності (ВЗД), що зумовлює розлад регуляторних механізмів, порушує адаптаційні реакції серцево-судинної системи і впливає на клінічні прояви ІХС. У пацієнтів поряд зі стенокардитичними спостерігались також не характерні для неї тривалі розлиті болі в ділянці серця, відчуття серцебиття, вегетативні кризи симпато-адреналового характеру, тахікардія, миготлива аритмія, екстрасистолія, підвищення АТ. За даними реоенцефалографії (РЕГ) і реовазографії у хворих переважало підвищення судинного тону. Супутньою ІХС патологією частіше спостерігали гіперплазію щитоподібної залози (ЩЗ), ГХ I ст., ГХ II ст., ДЕ 1-го ст. У хворих зі зниженими показниками тиреоїдних гормонів переважало зниження ВР і ВЗД. Це є ознакою глибоких порушень адаптаційних функцій ВНС і супроводжувалося на РЕГ при проведенні функціональних проб відсутністю або навіть парадоксальною реакцією судин на навантаження. Це може приводити до зриву компенсаторних резервів судин головного мозку, а також неадекватності кровопостачання міокарда і обтяженості цим коронарної патології. У хворих цієї групи спостерігались респіраторні розлади, вегето-судинні пароксизми вагоінсулярного характеру, ознаки серцевої недостатності, брадікардія, екстрасистолія. Серед супутніх захворювань частіше зустрічалась ЩЗ і ДЕ 2-го ст. При РЕГ – дослідженні у хворих переважали дані про зни-

ження судинного тону, затrudнення венозного відтоку.

Враховуючи важливу роль ВНС в регуляції серцево-судинної системи [26], ми проводили дослідження вегетативного статусу в поєднанні з показниками центральної і регіонарної гемодинаміки у хворих на ІХС з вегетативними порушеннями при остеохондрозі хребта (ОХ), ДЕ, ГЦЗ [25]. У хворих на ІХС без супутньої патології переважала еутонія, адекватний варіант ВР і ВЗД, у більшості (40%) спостерігався еукінетичний тип гемодинаміки. При ІХС в поєднанні з ОХ переважала симпатикотонія і гіпокінетичний тип гемодинаміки (серцевий індекс – $CI - 1,76 \pm 0,05$ л/хв·м², загальний периферичний опір-ЗПО – $2591,56 \pm 65,71$ дин·см·с⁻⁵) і переважно у хворих з більшою давністю захворювання на ОХ, вираженим больовим синдромом, м'язотонічними та нейродистрофічними змінами, тривожно-іпохондричними розладами. ЛНА на ЧАЕС серед таких хворих було 59%. За даними РВГ та РЕГ спостерігалася різнонаправленість показників судинного тону, але переважно його підвищення, що зумовлює зниження CI і формування гіпокінетичного типу кровообігу. У хворих з поєднанням ІХС та ГЦЗ з підвищеними показниками тиреоїдного гомеостазу переважала симпатикопатія, підвищення ВР та ВЗД, тип гемодинаміки у 69,8% хворих (з них 31% – «чорнобильці») був гіперкінетичний. За показниками РЕГ у хворих відзначено ознаки судинної дистонії, в нервово-психічному статусі відзначались підвищена тривожність, нервово-м'язова збудливість, роздратованість. У хворих на ІХС з ДЕ у 59,7% (з них – 42% ЛНА на ЧАЕС) випадків виявлено гіпокінетичний тип гемодинаміки ($CI - 1,83 \pm 0,04$ л/хв·м², ЗПО – $2001,4 \pm 92,8$ дин·см·с⁻⁵), домінувала парасимпатикотонія, ослаблення механізмів ауторегуляції і перш за все симпатичного відділу ВНС. У хворих на ДЕ 2-3-го ст. спостерігалось зниження ЗПО при всіх гемодинамічних типах, що свідчить про зменшення симпатичних впливів на судинний тонус. За даними РЕГ у більшості хворих спостерігалось утруднення венозного відтоку, зниження об'ємного швидкості мозкового кровотоку. Таким чином, при поєднанні ІХС і ДЕ, особливо із зростанням тяжкості ДЕ, ослаблюються симпатичні (гіперергічні) і підсилюються парасимпатичні (трофотропні) регуляторні впливи, формується гіпокінетичний тип гемодинаміки, спостерігаються депресивні розлади і пасивне відношення до хвороби, яке утруднює реабілітацію хворих.

Аналіз показників вегетативної рівноваги, одержаних методом кардіоінтервалографії, показав, що найадекватнішою є реактивність при гіперкінетичному типі гемодинаміки. Знижена і зворотня реактивність свідчить про порушення взаємодії ерготропних і трофотропних структур. Найменш достатня вегетативна рівновага поєднувалось з гіпокінетичним типом гемодинаміки і переважала у хворих на ІХС з ОХ та ІХС з ДЕ. Спостерігалася також деяка закономірність змін ВЗД при різних варіантах кровообігу. При гіперкінетичному відзначена надмірна ВЗД за ЧСС та АТ, гіпокінетичному – або недостатня, або не узгоджена за компонентами (надмірна за ЧСС і недостатня за АТ), що можна розцінювати як найбільш дисадаптивні зміни. Декомпенсація вегетативних функцій порушує адаптаційні реакції серця та судин, адекватність кровопостачання міокарда в різних умовах діяльності і безсумнівно впливає на перебіг ІХС.

Таким чином, формування, маніфестація і прогресування судинної патології у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС мають в своїй основі дисадаптаційні механізми, серед яких важливою є роль гормональних порушень, змін процесів перекисного окислення ліпідів і системи антиоксидантного захисту, імунного гомеостазу у тісному зв'язку з вегетативними розладами центрального і периферичного генезу. Це необхідно враховувати при розробці лікувально-профілактичних заходів з індивідуальним підходом до реабілітації кожного учасника цих трагічних і одночасно героїчних подій.

Виповнилось вже чверть століття з часу Чорнобильської аварії, але спричинені нею медичні і соціальні проблеми залишаються актуальними і на сьогодні. Про це свідчать недавні події на атомній станції "Фукусима" в Японії. Наслідки техногенних катастроф продовжують хвилювати людство.

Література

1. Афанасьєва Н.І. Особливості тиреоїдного гормонального гомеостазу при захворюваннях щитовидної залози у сучасних радіаційно-екологічних умовах України // УРЖ.-1998.-№3-С.354-357.
2. Бажан К.В. Природні фізичні чинники в лікувальні пацієнтів, що зазнали впливу екстремальних факторів.- Полтава, 1998,-207с.
3. Вейн А.М. (ред.) Заболевания вегетативной нервной системы. Руководство для врачей .М., Медицина, 1991.-622с.
4. Дисциркуляторная энцефалопатия и её сочетание с другими заболеваниями нервной системы у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЕС (диагностические и терапевтические подходы) / Т.В.Мироненко, В.Н.Пеннер, Н.Л.Пицул и др. // Международный неврологический журнал.-2010.-№4(34).-с.25-28.
5. Дослідження варіабельності серцевого ритму у кардіологічній практиці/ В.О.Бобров, В.М.Чубуний, О.Й.Жарінов та ін./ Методичні рекомендації, К., 1999.-24 с.
6. Дружинин А.М. Изменение мотивации поведения имеющих официальный статус пострадавших в результате аварии на ЧАЭС // Материалы научной конференции «Актуальные проблемы эпидемиологии и первичной профилактики медицинских последствий аварии на ЧАЭС (Киев, 15-16 окт.1997).- К. : Чернобиль –интерформ.1999.- С.269-273.
7. Ждан В.Н. Полтавский бишопит в комплексной реабилитации ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС/ В.Н.Ждан, Ю.М.Казак, В.Ю.Штомпель// Тезисы VIII Юбилейной российской науч.конф. с медунар.уч. "Реабилитация и вторичная профилактика в кардиологии".- Москва,2009.-С.63-64.
8. Желудочковое нарушение ритма у больных ишемической болезнью сердца: Возможная роль автономной нервной системы/ В.А.Бобров, В.Н.Симорот, А.П.Степаненко. и др. // Кардиология .-1993.-Т.33.-№1.-С.11-14.
9. Исмагилов М.Ф. Роль вегетативной нервной системы в регуляции не- специфических иммунных реакций организма / М.Ф.Исмагилов, Ю.В.Коршун.// Казанский медицинский журнал-1991.- Т.72, №1.- С.69-72.
10. Карамова Л.М. Медицинские последствия Чернобыльской катастрофы/ Л.М.Карамова, Г.Р.Башарова, М.Х.Гибидулина // Фундаментальные исследования.- 2009.-№7.-С.64-65.
11. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика.-М.: Наука.-1981.-278с.
12. Мешков В.А. Эффективность лечения сердечно-сосудистой патологии у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции/ Н.А.Мешков., Т.А.Куликова, М.В.Фокеева // Радиация и риск (Бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра). - 2011. - Т20. - №3. - С.47-57.
13. Нягу А.Ч. Психоневрологические и психологические аспекты последствий аварии на Чернобыльской АЭС//Вестн.АМН СССР. 1991. - № 11- С.31-32.

14. Особливості вегетативного статусу у хворих з безболівою ішемією міокарда / О.С.Полянська, В.К.Ташук, Н.В.Багун та ін.// Буковинський медичний журнал, 1998.- №3.- С.47-50.
15. Петров Р.В. Роль гормонов и медиаторов в функционировании иммунной системы // Вести АМН СССР.1980.-Т.7.-С.11-17.
16. Сердечно-сосудистые заболевание и их факторы риска у ликвидаторов последствий аварии на черновильской АЭС по итогам скринирующего обследования/ В.И.Шамарин, С.А.Шальнов, С.К.Кукушкин и др. // Кардиология.-1996.-№3.-С.44-46.
17. Тайцлин В.И. Вегетативная дистония и цереброваскулярные нарушения// Международный медицинский журнал, 1999.-№3.-С.31-34.
18. Фомин В.В. Гипоталамо-гипофизарная система и иммунный ответ при инфекционных заболеваниях/ В.В.Фомин, С.Н.Козлова, Ю.А.Князев - Свердловск : Изд-во Урал.ун-та,1991.-240с.
19. Хомазюк И.Н. Психозомоциональные факторы и болезни системы кровообращения у пострадавших при Чернобыльской катастрофы. // Материалы междунар. конф. « Актуальные и прогнозируемые нарушения психического здоровья после ядерной катастрофы в Чернобыле (Киев, 24-28 мая 1995г.). - К. – 1995. – С.276.
20. Штомпель В.Ю. Ветерогенные болевые синдромы: механизмы развития, связь с коронарной патологией // Международный медицинский журнал.-1999.- т.5,4.- С.25-27.
21. Штомпель В.Ю. Особенности диагностики и лечения ИБС на фоне вегетативных дисфункций у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС // Международный медицинский журнал.-1999.- т.5,4.-С.27-29.
22. Штомпель В.Ю. Дисадаптаційні механізми формування судинної патології у ліквідаторів аварії на ЧАЕС// Український радіологічний журнал.-2000.-№4.-С.376-378.
23. Штомпель В.Ю. Перебіг ішемічної хвороби серця при тироїдно-вегетативних дисфункціях// Український радіологічний журнал.-2000.-№3.-С.328-330.
24. Штомпель В.Ю. Вплив вегетативних дисфункцій центрального і периферичного ґенезу на клініко- патогенетичні особливості ІХС у ліквідаторів аварії на ЧАЕС// Медицина сегодня и завтра.-2000.-№3.-С.68-71.
25. Штомпель В.Ю. Особливості функціонального стану серцево - судинної системи і варіанти його регуляції хворих на ІХС з вегетативними порушеннями // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник УМКА.-2001.- Т.1.вип.1-2.- С.53-55.
26. Шхвацабая И.К. О Новом подходе к пониманию гемодинамической нормы./ И.К.Шхвацабая, Е.Н.Константинов, И.А.Гундаров // Кардиология .-1981.- №3.-С.10-14.
27. Яблучанский Н.И. Основы практического применения неинвазивной технологии исследования рефлексорных систем человека/ Н.И.Яблучанский, А.В.Мартыненко, А.С.Исаева - Харьков, Основа,-2000.-86с.
28. De Ferrari G.M. Cardiac vagal activity, myocardial ischemia and sudden death/ G.M.De Ferrari, E.Vanoli, F.J.Schwartz // Cardiac Electrophysiology, From Sell to Badside.-1995-Vol.30.- №1- P.422-434.
29. Modulation of the immune system by the autonomic nervous system and it's implication in immunological changes after training/ K.Nagatomi, T.Kaifu, M.Orutsu at al.// Exerc.Immunol.Rev.-2000.-Vol.6.-P.54-74.
30. Shtompel V. Iu. Rehabilitation of coronary patients with psychovegetativ disturbances // World congress on rehabilitation in psychiatry. Abstracts.-Belgrade. Yugoslavia. August 27-30, 1997.-P.78.

English version: VASCULAR PATHOLOGY IN LIQUIDATORS OF THE ACCIDENT AT CHERNOBYL NUCLEAR POWER PLANT: FORMATION, MANIFESTATION, AND PROGRESSING. LITERATURE REVIEW AND OWN INVESTIGATION*

Zhdan V.M., Shtompel V.Yu.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava.

Vascular pathology keeps fundamental place in the morbidity structure among liquidators of the accident at Chernobyl Nuclear Power Plant in spite of the remote period after the catastrophe. This determines the significance for studying basic pathogenetic mechanisms of the diseases occurring due to the influence of complex disturbing factors. This research paper shows that the liquidators of the accident at Chernobyl Nuclear Power Plant demonstrate the changes in the indices of pituitary-thyroidal-adrenal hormones, shifts in the system of lipoperoxidation and antioxidant protection as well as in the system of vegetative and immune regulation. These factors determine the activity of compensatory and adaptive processes in the human body. The authors have found out that the adaptive functions of pituitary-thyroidal-adrenal system fade inversely proportional to the growth of pathologies ranging from the functional (the first stage of discirculatory encephalopathy (DE)) to organic (ischemic heart disorder of the second stage of discirculatory encephalopathy (IHD)), and these functions become weaker in combinations of IHD and DE in the liquidators of the Chernobyl accident. In the system of the free-radical lipid oxidation for these patients the processes of lipoperoxidation are noticed to become more intensive, and the compensatory tension of antioxidant protective system shows the decrease in its activity in cases of comorbidities. There is a dependence of clinical manifestations of the diseases, hormonal and metabolic changes, state of central and peripheral hemodynamics on the direction of vegetative regulation and pathogenetic mechanisms of its disturbances. In proportion to the aggravation of vascular and concomitant segmental and suprasedgmental vegetative pathologies in the liquidators of Chernobyl accident the capacity of vegetative regulation of circulatory system fails to function normally shifting towards the parasympathetic section and unbalancing of vegetative supply. Thus, the formation, manifestation, and progressing of cardio-vascular disorders under the influence of complex disturbing factors are mainly caused by the pathological changes determined by the decrease in activity of compensatory and adaptive processes of the organism and, therefore the proper correction is necessary.

Key words: hormones, lipid peroxidation, antioxidant system, vegetative nervous system, liquidators of Chernobyl accident.

The dynamics of morbidity among the liquidators of the Chernobyl accident which is known as the planetary technogenic world catastrophe was characterized by gradual growth starting in 1989-1990-s. The functional syndromes as vascular dystonia, asthenic syndrome, astheno-neurotic syndrome developed at the first stage. Then this pathology turned into the organic one including hypertension (H), discirculatory encephalopathy (DE), ischemic heart disease (IHD). Most authors connect this process with an action of complex damaged factors that affected on the human organism in the conditions of liquidation consequences of Chernobyl disaster. It is important to mention diseases of circulatory system are widespread in the structure of liquidator's morbidity and in the further period from the beginning stage of catastrophe [4,7,10,12]. Undoubtedly, certain commonly known factors also contribute to the occurrence of vascular pathology in this population. [10,16,19]. However it is impossible to exclude an impact produced by the limited adaptive resources, unbalance of many mechanisms that may result not only in rapid development of the diseases but in its progression as well.

We examined the liquidators of Chernobyl accident who worked at the Chernobyl Nuclear Power Plant for 1986 –1987, when except the radial factor (a dosage of exterior homogeneous gamma-irradiation for patients ranged from 5 to 50 rem (roentgen equivalent man). The mean value for 85% of the liquidators made up 18.5 rem

according to the information reported by the regional military registration and enlistment offices. These persons were also severely exposed to the influence of chemically aggressive substances, which were used for dust reduction and deactivation of surfaces, they also experienced long-time chronic stress (especially in the conditions of objective situation, which was often changing due to many factors) which disturbed the motivational personality sphere [6]. The impact produced by the complex of above-mentioned disturbing factors resulted in the following consequences which included the disturbance of general adaptive reactions, which failed to adapt to unwanted influences, and in some cases could lead to the development of pathologies [2]. The failure in functioning of compensatory and adapted process compensatory and adapted processes mainly consists in some changes that occur in the pituitary-thyroidal-adrenal system, in the system of lipid peroxidation and antioxidant protection, in immune status and hemostasis [11,15,18].

The problem of vegetative dysfunctions as one of the leading mechanisms of dysadaptation takes on special significance for the liquidators of Chernobyl accident (LCA) [3,13,17]. Segmentary and suprasedgmentary vegetative centers affect on the functional condition of human systems and organs as well as they are responsible for regulating blood circulation. Clinical researches convincingly demonstrate the close interdependence between the nervous system, non-specific resistance and immu-

* To cite this English version: Zhdan V.M., Shtompel V.Yu. Vascular Pathology in Liquidators of the Accident at Chernobyl Nuclear Power Plant: Formation, Manifestation, and Progressing. Literature Review and Own Investigation // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 17 -20.

nogenesis. There has also been shown the development of immune suppression in humans under stress [9,18]. The investigations on immunosympathetic animals have demonstrated the sympathetic section of vegetative nervous system (VNS) is an efferent section in the regulation of immune response. Depression of adrenergic mechanisms is accompanied with the suppression of specific reaction on antigen. Sympathetic nervous system stimulates functions of lymphoid tissue, and catecholamines serve as mediators activating leukocytes and phagocytes. Control influence of catecholamines on immune reactions is performed by means of adrenoreceptors [9, 29].

Clinical studies confirm the interrelation between the VNS dysfunction and hormonal homeostasis [23, 24]. It has been shown the progress of vascular pathology in LCA which ranges from functional DE of the 1st stage to organic condition (coronary heart disease (CHD) – stable exertional angina of II-III FC, DE of the 2nd stage) is accompanied by the changes in the pituitary-thyroidal-adrenal system, and its adaptative functions steadily fade, and in cases of comorbidities, for instance, in a case of CHD and DE of the 2nd stage they become considerably exhausted [22]. So, the highest level of cortisol was observed in DE of the 1st stage ($943,56 \pm 34,48$ nmol/l), while in the patients with CHD, DE of the 2nd stage it was likely < lowered ($548,37 \pm 27,61$ and $461,47 \pm 21,34$ nmol/l accordingly, $p_1 < 0,01$, $p_2 < 0,01$). Thus, the prolonged tension of compensatory adaptative processes can lead to exhaustion of the main adaptative mechanisms.

The patients with the comorbidities of CHD and DE of the 2nd stage manifested the course which was marked by more expressed clinical, biochemical and functional severity, and the level of cortisol was likely lowered ($287,38 \pm 16,56$ nmol/l) in comparison not only with the indices of the patients with DE of the 1st stage ($p_1 < 0,01$), but also with the indices of the patients who had CHD ($p_2 < 0,01$) and DE of the 2nd stage ($p_3 < 0,01$). At the same time the patients were observed to show the changes in the vegetative reaction. The analysis of neurohumoral regulation of the heart rhythm spectrum power [5] in LCA under the observation found out its decrease simultaneously with the growth of pathology severity (in DE of the 1st stage - 2367 ± 1706 mc², in CHD - 1737 ± 1241 mc², in DE of the 2nd stage - 1737 ± 1241 mc², CHD in combination with DE of the 2nd stage - 531 ± 314 mc²) with the shift of regulation balance towards the parasympathetic section.

The dynamics of triiodothyronin (T₃ hormone) in the patients was identical to the dynamics of cortisol indices (in DE of the 1st stage - $2,4 \pm 0,16$ nmol/l, in CHD - $2,13 \pm 0,07$ nmol/l, in DE of the 2nd stage - $1,69 \pm 0,17$ nmol/l, in CHD combined with DE of the 2nd stage - $1,41$ nmol/l, $p_1 < 0,01$, $p_2 < 0,01$, $p_3 < 0,05$). The level of thyroid-stimulating hormone was changing statistically uncertainly.

The increase in activity of pituitary-thyroidal-adrenal system and sympathico-adrenal system which are the most important components of human adaptative system performs a major protective function. But prolonged tension of these mechanisms may turn into a damaging factor with time, which can interfere the blood supply of systems and organs, lower the immunity and promote transformations of functional vascular disorders into severe forms of vascular pathology as CHD, DE, essential hypertension. It is possible to assume that these dis-

eases which have developed against the background of prolonged stress produce an influence upon the depression of compensatory – accommodative processes. In our study this is pointed out by the indices of cortisol, triiodothyronin in the patients with CHD, DE of the 2nd stage and with their combination.

It is necessary to emphasize that the patients with CHD and DE who did not take part in the elimination of the Chernobyl Nuclear Power Station accident show the reverse dynamics of cortisol and triiodothyronin levels which increases in accordance with the aggravation of the pathology. The highest cortisol level was observed in the patients with CHD (it exceeded in 1,4 times), in the patients with DE of the 2nd stage (it exceeded in 1,5 times), and in the patients with both CHD and DE of the 2nd stage this level was doubled in comparison with the patients who had DE of the 1st stage. The changes in triiodothyronin level were characterized by the identical directedness.

The prolonged stress and the presence of vascular pathology in LCA lead to the activation of lipid peroxidation processes and to the tension of SAOP which gradually runs out as the vascular disorders progress [22, 24]. It results in the cellular membranes damage, the disturbances in microcirculation, rheological blood properties, immunity, and complicates the course of the disease. The patients with CHD and DE who did not take part in the elimination of consequences of the Chernobyl accident demonstrate the increase in the activity of prooxidant system but against the background of SAOP tension according to the severity of the pathology.

We investigated the characteristics of the course of CHS in LCA against the background of thyroid-vegetative dysfunctions [23]. It is known that CHD is complicated with disturbances of vegetative nervous system (VNS) [3, 20, 21, 28, 30]. These disturbances rank the leading position in the development of lethal arrhythmias [8], latent myocardial ischemia [14], sudden cardiac death [27].

When comparing the parameters of the functional state of the VNS and the thyroid gland (TG) it is possible to observe an interdependence between the character of autonomic reactions and the concentrations of thyroidal hormones: thus, sympathicotony is characterized by their elevation, while parasympathicotony is characterized by their lowering. Some attention should also be paid to the absence of appropriate response of central regulatory mechanisms to the dynamics of thyroidal hormones (comparing the indices of thyroid-stimulating hormone in the patients with both their elevated and lowered level, $p > 0,5$), that may contribute to the aggravation of thyroid dysfunction.

The patients with elevated indices of thyroidal hormones mainly demonstrate the increase in autonomic reactivity (AR), vegetative supply of body vitality (VSV) that determines the disturbances in regulatory mechanisms, in the adaptive responses of the cardiovascular system and affects the clinical manifestations of CHD. The patients were observed to have not only anginal pain, but long-lasting diffuse cardiac pain, palpitation, vegetative crises of sympatho-adrenal character, tachycardia, cardiac fibrillation, extrasystole, the growth of arterial pressure. According to the data obtained by rheoencephalography (REG) and rheovasography (RVG) the patients predominantly had increased vascular tone. Such conditions as the thyroid hyperplasia (TH), essential hypertension (EH) of the I stage, EH of the II stage, and DE of the I stage were registered to be the concomi-

tant pathologies for CHD. The patients with lowered indices of thyroidal hormones mainly manifested the reduction of vegetative reactions and VSV. This might be considered as a sign of profound disturbances in adaptive functions of VNS and was accompanied with the absence or even paradoxical vascular response under exertion that was shown with the REG functional tests. This may lead to the failure of compensatory reserves as well as to the inadequacy of myocardial blood supply and in this way to the aggravation of coronary pathology. The patients of this group were observed to have the respiratory disorders, vegetative-vascular paroxysms of vago-insular nature, signs of heart failure, bradycardia, extrasystole. TH and the DE of the II stage were registered as the commonest concomitants diseases. REG findings found out the weakening of vascular tone and difficulties in venous outflow.

Taking into the consideration the important role of VNS in the regulation of the cardiovascular activity [26], we carried out the studied vegetative status conjunction with the parameters of central and regional hemodynamics in the patients who had underlying CHD and such comorbidities as vegetative disorders in spinal osteochondrosis (SOCH), DE, TH [25]. The patients having CHD and no comorbidities demonstrated the prevalence of eutony, adequate VR and VSV, and in most patients (40%) the eukinetic type of hemodynamics was observed. In cases of CHD and concomitant SOCH the sympathicotony and hypokinetic type of hemodynamics dominated (cardiac index - CI - $1,76 \pm 0,05$ l/min • m², total peripheral resistance - GPR - $2591,56 \pm 65,71$ dyn • cm • s⁻⁵) mainly in patients who had longer course of SOCH, pronounced pain syndrome, muscular tonic neurodystrophic changes, anxiety and hypochondriacal disorders. The LCA made up 59% of these patients. According to the RVG and REG findings there were registered differently directed vectors of vascular tone, but mostly it increased, that led to the lowering of CI and the formation of hypokinetic circulation type. The patients with CHD and increased indices of thyroidal homeostasis demonstrated the predominance of sympathopathy was dominated, increased VR and VSV. 69.8% patients (among whom LCA constituted 31%) were observed to have hyperkinetic type of hemodynamics. REG findings pointed to the signs of vascular dystony, neuropsychological status showed increased anxiety, neuromuscular excitability, irritability.

59.7% of the patients with CHD and DE (among whom LCA made up 42%) demonstrated hypokinetic type of hemodynamics (CI - $1,83 \pm 0,04$ l/min • m², General peripheral resistance (GPR) - $2001,4 \pm 92,8$ dynes • cm • s⁻⁵), prevalent parasympathicotony, weakening of mechanisms responsible for autoregulation of VNS and especially its sympathetic division. In the patients with DE of 2nd and 3rd stages GPR was recorded to decrease in all the hemodynamic types that pointed out the decrease in sympathetic influences upon the vascular tone. According to REG findings most patients had venous outflow obstruction, decreased volume and rate of cerebral circulation. Thus, in cases of the combination of CHD and DE, especially in increasing severity of DE, sympathetic (hyperergic) regulatory influences become weaker while parasympathetic (trophotropic) ones become stronger, the hypokinetic type of hemodynamics develops as well as depressive disorders and passive attitude to the disease, which complicates the rehabilitation of the patients may occur.

The analysis of parameters of autonomic balance obtained by cardiointervalography has shown that the most appropriate reactivity is registered in hyperkinetic type of hemodynamics. Lowered and reversed reactivity points to the disturbances in interaction between ergotropic and trophotropic structures. The least sufficient autonomic balance was combined with hypokinetic type of hemodynamics and prevailed in patients with CHD and such comorbidities as SOCH and / or DE. There was a particular regularity in changes of vegetative supplying of vitality (VSV) in different variants of circulation. The hyperkinetic variant was marked by excessive VSV in heart rate and blood pressure, while hypokinetic variant was characterized by insufficient or uncoordinated with components (excessive in heart rate and insufficient in blood pressure), which might be regarded as the most inadaptative changes. Decompensation of autonomic functions disturbs the adaptive responses of the heart and blood vessels, the adequacy of myocardial blood supply in a variety of conditions and certainly produces an impact on the development of CHD.

Thus, the formation, manifestation and progression of vascular disease in liquidators of the Chernobyl accident is based on the mechanisms of inadaptability, among which the leading role belongs to hormonal disorders, changes in lipid peroxidation and antioxidant protection system, immune homeostasis in close association with autonomic disorders of the central and peripheral genesis. This should be taken into account when developing patient-oriented therapeutic and preventive measures for the rehabilitation of each member of those tragic and at the same time heroic events.

A quarter of a century has passed since the Chernobyl accident happened, but it gave rise to grave medical and social consequences which are still urgent nowadays. This is evidenced by recent events in the nuclear power plant "Fukushima" in Japan. Unfortunately, the consequences of technogenous catastrophes are still threatening the mankind.

References

1. Afanas'eva N.I. Osoblivosti tireoidnogo gormonal'nogo gemostazu pri zachvoryuvannykh schitovidnoi zalozi u suchasnykh radiatsiyno-ekologichnykh umovach Ukraïni URZh.-1998.-№3-s.354-357.
2. Bazhan K.V. Prirodni fizichni chinniki v likuval'ni pazientiv , scho zaznali vplivu ekstremal'nykh faktoriv.- Poltava, 1998.-207s.
3. Veyn A.M. (red.) Zabolevanie vegetativnoy nervnoy sistemi. Rukovodstvo dlya vrachey .M., Medizina,1991.-622s.
4. Diszirkulyatornaya encefalopatiya i eye sochetanie s drugimi zabolevaniyami nervnoy sistemy u uchastnikov likvidatsii posledstviy avarii na ChAES (diagnosticheskie i terapevticheskie podchody) / T.V.Mironenko, V.N.Penner, N.L.Pizul i dr. // Mezhdunarodnyy nevrologicheskiy zhurnal.-2010.-№4(34).-s.25-28.
5. Doslidzhennya variabel'nosti serzevogo ritmu u kardiologichnykh praktik / V.O.Bobrov, V.M.Chubuchniy, O.Y.Zharinov ta in. / Metodichni rekomendazii, K., 1999.-24 s.
6. Druzhinin A.M. Izmenenie motivatsii povedeniya imeyuschich ofitsial'nyy status postradavshikh v rezul'tate avarii na ChAES // Materialy nauchnoy konferentsii «Aktual'nye problemy epidemiologii i pervichnoy profilaktiki meditsynskikh posledstviy avarii na ChAES (Kiev ,15-16 okt.1997).- K. : Chernobyl' -interform.1999.-S.269-273.
7. Zhdan V.N. Poltavskiy bishofit v kompleksnoy reabilitatsii likvidatorov posledstviy avarii na ChAES/ V.N.Zhdan, Yu.M.Kazakov, V.Yu.Shtompel// Tezisy VIII Yubileynoy rossiyskoy nauch.konf. s medunar.uch. "Reabilitatsiya i

- vtorichnaya profilaktika v kardiologii".—Moskva,2009.—S.63–64.
8. Zheludochkovoe narushenie ritma u bol'nykh ishemicheskoy boleznyu serca: Vozmozhnaya rol' avtonomnoy nervnoy sistemy/ V.A.Bobrov, V.N.Simorot, A.P.Stepanenko. i dr. // Kardiologiya. — 1993.—T.33.—№1.—S.11–14.
9. Ismagilov M.F. Rol' vegetativnoy nervnoy sistemy v regulyazii ne- specificheskikh immunnykh reakziy organizma / M.F.Ismagilov, Yu.V.Korshun.// Kazanskiy meditsinskiy zhurnal—1991.—T.72, №1.—S.69–72.
10. Karamova L.M. Meditsinskie posledstviya Chernobyl'skoy katastrofy/ L.M.Karamova, G.R.Basharova, M.Ch.Gibidulina // Fundamental'nye issledovaniya.—2009.—№7.—S.64–65.
11. Meerson F.Z. Adaptaziya, stress i profilaktika. — M.: Nauka.—1981. — 278s.
12. Meshkov V.A. Effektivnost' lecheniya serdechno-sosudistoy patologii u likvidatorov posledstviy avarii na Chernobol'skoy atomnoy elektrostanzii/ N.A.Meshkov., T.A.Kulikova, M.V.Fokeeva //Radiaziya i risk (Byulleten' natsional'nogo radiazionno-epidemiologicheskogo registra).—2011.—T20.— №3.— S.47–57.
13. Nyagu A.Ch. Psichonevrologicheskie i psichologicheskie aspekty posledstviy avarii na Chernobyl'skoy AES//Vestn.AMN SSSR,1991.—11— S.31–32.
14. Osoblivosti vegetativnogo statusu u chvorich z bezbol'ovoyu ishemieyu miokarda / O.S.Polyans'ka, V.K.Taschuk, N.V.Bagun ta in.// Bukovins'kiy medichniy zhurnal,1998.— №3.— S.47–50.
15. Petrov R.V. Rol' gormonov i mediatorov v funkcionirovanii immunnnoy sistemy // Vesti AMN SSSR.1980.—T.7.—S.11–17.
16. Serdechno-sosudistye zabolevanie i ich faktory riska u likvidatorov posledstviy avarii na chernobyl'skoy AES po itogam skriniruyushego obsledovaniya/ V.I.Shamarin, S.A.Shal'nov, S.K.Kukushkin i dr. // Kardiologiya.—1996.— №3.—S.44–46.
17. Tayzlin V.Y. Vegetativnaya distoniya i zerebrovaskulyarnye narusheniya// Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal, 1999. — №3.—S. 31–34.
18. Fomin V.V. Gipotalamo-gipofizarnaya sistema i immunnyy otvet pri infekzionnykh zabolevaniyach/ V.V.Fomin, S.N.Kozlova, Yu.A.Knyazev - Sverdlovsk : Izd-vo Ural.un-ta,1991.—240s.
19. Chomazyuk I.N. Psichoemozional'nye faktory i bolezni sistemy krovoobrascheniya u postradavshikh pri Chernobyl'skoy katastrofi. // Materialy mezhdunar. konf. « Aktual'nye i prognoziруemye narusheniya psichicheskogo zdorov'ya после yadernoy katastrofy v Chernobyle (Kiev, 24–28 maya 1995g.).— K.— 1995.— S.276.
20. Shtompel' V.Yu. Veteбrogennye bolevye sindromy: mekhanizmy razvitiya, svyaz' s koronarnoy patalogiey // Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal.—1999.— t.5,4.— S.25–27.
21. Shtompel' V.Yu. Osobennosti diagnostiki i lecheniya IBS na fone vegetativnykh disfunkziy u likvidatorov posledstviy avarii na ChAES // Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal.— 1999.— t.5,4.—S.27–29.
22. Shtompel' V.Yu. Disadaptaziniy mekhanizmi formuvannya sudinnoy patologiyi u likvidatoriv avariyi na ChAES// Ukrayins'kiy radiologichniy zhurnal.—2000.—№4.—S.376–378.
23. Shtompel' V.Yu. Perebig ishemichnoy chvorobi serzya pri tiroyidno-vegetativnykh disfunkziyach// Ukrayins'kiy radiologichniy zhurnal.—2000.—№3.—S.328–330.
24. Shtompel' V.Yu. Vpliv vegetativnykh disfunkziy zentral'nogo i periferichnogo renezu na kliniko-patogenetichni osoblivosti IChS u likvidatoriv avariyi na ChAES// Medizina segodnya i zavtra.—2000.—№3.—S.68–71.
25. Shtompel' V.Yu. Osoblivosti funktsional'nogo stanu serzevo - sudinnoy sistemi i varianti yogo regulyaziyi chvorich na IChS z vegetativnimi porushennyami // Aktual'ni problemi suchasnoyi medizini. Visnik UMSA.—2001.— T.1.vip.1–2.— S.53–55.
26. Shchvazabaya I.K. O Novom podchode k ponimaniyu gemodinamicheskoy normy./ I.K.Shchvazabaya, E.N.Konstaninov, I.A.Gundarov // Kardiologiya .—1981.— №3.—S.10–14.
27. Yabluchanskiy N.I. Osnovy prakticheskogo primeneniya neinvazivnoy tehnologii isledovaniya reflektornykh sistem cheloveka/ N.I.Yabluchanskiy, A.V.Martynenko, A.S.Isaeva — Char'kov, Osnova,—2000.—86s.
28. De Ferrari G.M. Cardiac vagal activity, myocardial ischemia and sudden death/ G.M.De Ferrari, E.Vanolli, F.J.Schwartz // Cardiac Electrophysiology, From Sell to Badside.—1995—Vol.30.— №1— p.422–434.
29. Modulation of the immune system by the autonomic nervous system and it's implication in immunological changes after training/ K.Nagatomi, T.Kaifu, M.Orutsu at al.// Exerc.Immunol.Rev.—2000.—vol.6.—p.54–74.
30. Shtompel V. Iu. Rehabilitation of coronary patients with psychovegetativ disturbances // World congress on rehabilitation in psychiatry. Abstracts.-Belgrade. Yugoslavia. August 27–30, 1997.—p.78

Матеріал надійшов до редакції 3.09.2013 р.

© Куліш М.В.

УДК: 616.24-002.5-08:615.357

ВПЛИВ КОРТИКОСТЕРОЇДІВ НА ФУНКЦІЮ КОРИ НАДНИРНИКІВ У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ ДЕСТРУКТИВНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ*

Куліш М.В.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Для изучения влияния экзогенных кортикостероидов на функцию коры надпочечников при туберкулезе был определен уровень плазменного кортизола и альдостерона у больных с впервые диагностированным деструктивным туберкулезом легких, их взаимосвязь и изменения в процессе лечения. До начала лечения у больных с впервые диагностированным деструктивным туберкулезом легких наблюдалось значительное повышение уровня кортизола и снижение уровня альдостерона в плазме крови. Добавление экзогенных кортикостероидов с учетом суточного биоритма функции надпочечников к комплексному лечению таких больных не угнетает, а осуществляет умеренное стимулирующее действие на функцию коры надпочечников, которое проявлялось более медленной нормализацией уровня кортизола и незначительным повышением уровня альдостерона в плазме крови, способствовало сокращению сроков и повышению эффективности лечения. Высокий уровень минералокортикоидов (альдостерона) поддерживает провоспалительный потенциал тканей, обуславливая угнетение противовоспалительного действия глюкокортикоидов, способствуя увеличению сроков лечения и снижению его эффективности, и может рассматриваться, как прогностически неблагоприятный фактор, относительно прогноза течения и лечения туберкулеза у таких больных.

Ключевые слова: туберкулез, функция надпочечников, кортизол, альдостерон, лечение, кортикостероиды

Одним з найважливіших факторів підтримки гомеостазу в організмі в умовах інтоксикаційного стресу є функція кори наднирників, яка забезпечує адаптивні процеси шляхом біосинтезу кортизолу і альдостерону, які є факторами прозапального і протизапального потенціалу тканин, формуючи особливості перебігу патологічного процесу. Глюкокортикоїди і мінералокортикоїди мають протилежно спрямовану дію. Глюкокортикоїди (кортизол) здійснюють протизапальну дію, а мінералокортикоїди (альдостерон) потенціюють запальний процес. Якщо глюкокортикоїдна функція наднирників при туберкульозі широко вивчалась у 70-80 роках минулого століття [2, 3, 11, 13], то їх мінералокортикоїдній функції, взагалі, увага майже не приділялась. Зустрічаються лише поодинокі роботи, в яких, в тому числі, проводилося визначення рівня альдостерону [9, 11], кортистерону [2, 6] і декілька робіт, в яких оцінювалася функція ренін-ангіотензин-альдостеронової системи при туберкульозі [5, 8], але комплексного вивчення одночасно і глюкокортикоїдної і мінералокортикоїдної функції кори наднирників при туберкульозі не проводилося, хоча їх вивчення має суттєве значення в корекції запального потенціалу тканин при патологічних процесах, в тому числі і при туберкульозі.

Визначення рівня кортизолу і альдостерону в плазмі крові хворих на туберкульоз, їх співвідношення та вивчення динаміки змін рівня цих гормонів під впливом кортикостероїдної (КС) терапії може розкрити механізми саногенезу при лікуванні туберкульозу. Тому, метою роботи було визначення рівня плазматичного кортизолу і альдостерону, їх взаємозв'язку у хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз

легень та вивчення їх змін в процесі лікування і під впливом глюкокортикостероїдних препаратів.

Матеріали та методи дослідження

Рівень кортизолу і альдостерону був визначений у 38 хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень з бактеріовиділенням, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в Полтавському обласному клінічному протитуберкульозному диспансері. В залежності від режиму лікування всі хворі були розподілені на дві групи. Група ПТП+КС – 23 хворих – отримували стандартну хіміотерапію [7] протитуберкульозними препаратами (ПТП) з додатковим призначенням в інтенсивну фазу преднізолону з урахуванням добового біоритму функції наднирників (по 20 мг через день, зранку, одноразово, протягом не менше 2 місяців, з відміною препарату одноразово, без зниження фармакотерапевтичної дози) [1, 10, 12]. Група ПТП – 15 хворих – отримували тільки протитуберкульозні препарати за стандартними режимами. За статтю, віком, клінічними формами і тяжкістю туберкульозного процесу групи були ідентичними. Контрольну групу склали 11 здорових добровольців. Під час дослідження права пацієнтів були враховані у відповідності до вимог Гельсінкської конвенції.

Гормональні дослідження були виконані на базі Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтави за допомогою сучасних стандартних наборів (DRG® Cortisol ELISA (EIA 1887) та DRG® Aldosterone ELISA (EIA 4128), DRG International Inc., USA). Забір крові для досліджень проводили зранку (7³⁰-8³⁰), на-

* Цитування при атестації кадрів: Куліш М.В. Вплив кортикостероїдів на функцію кори наднирників у хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 21-23.

тщесерце. З метою виключення впливу різних факторів на результати дослідження, за 5-7 днів до взяття крові виключали прийом ліків, які можуть впливати на рівень гормонів в крові, рекомендували зберігати психічний спокій, не вживати алкоголь, не зловживати соленою їжею. Рівень гормонів у хворих визначали при госпіталізації (до початку лікування), через 2-3 місяці (після закінчення інтенсивної фази лікування) і перед випискою із стаціонару.

Ефективність лікування визначали за динамікою клінічних проявів хвороби, нормалізацією показників гемограми, припиненням бактеріовиділення, розсмоктуванням інфільтративних та вогнищевих змін або їх ущільненням і загоєнням каверн. Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою електронних таблиць Microsoft Office Excel 2007 [4] з визначенням середньостатистичної величини, її середньої похибки та t-критерія Ст'юдента. Різницю між параметрами, що вивчалися, вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

До початку лікування у хворих на туберкульоз обох дослідних груп спостерігалось значне підвищення середнього рівня кортизолу ($244,41 \pm 7,77$ та $231,89 \pm 13,55$ нг/мл, $p > 0,05$, відповідно) і зниження середнього рівня альдостерону ($93,0 \pm 4,34$ та $88,09 \pm 10,14$ пг/мл, $p > 0,05$, відповідно), порівняно з даними контрольної групи (табл. 1). Після закінчення

інтенсивної фази лікування (після завершення прийому преднізолону хворими групи ПТП+КС) в обох групах відмічалось зниження рівня кортизолу ($229,41 \pm 9,26$ та $200,89 \pm 12,69$ нг/мл, $p > 0,05$, відповідно), більш виражене у хворих групи ПТП, які приймали тільки протитуберкульозні препарати. Ця тенденція спостерігалась і по закінченню курсу лікування ($202,5 \pm 3,99$ та $194,13 \pm 8,87$ нг/мл, $p > 0,05$, відповідно). Рівень альдостерону через 2-3 місяці лікування у хворих групи ПТП+КС підвищився ($109,46 \pm 5,98$ пг/мл), тоді як у групі ПТП він майже не змінився ($87,56 \pm 7,61$ пг/мл, $p < 0,05$). Наприкінці лікування, навпаки, спостерігалось значне зниження кількості альдостерону у хворих групи ПТП+КС ($76,3 \pm 2,45$ пг/мл) і значне підвищення його – у пацієнтів групи ПТП ($112,25 \pm 4,97$ пг/мл, $p < 0,001$).

Виявлені тенденції пов'язані з тим, що додаткове призначення преднізолону, з урахуванням добового біоритму функції наднирників, хворим групи ПТП+КС здійснювало помірну стимулюючу дію на функцію кори наднирників, не викликаючи її пригнічення, що проявлялось більш помірними темпами нормалізації рівня кортизолу і незначним підвищенням рівня альдостерону через 2-3 місяці лікування, на відміну від показників пацієнтів групи ПТП, і призводило до підвищення ефективності лікування хворих групи ПТП+КС.

Таблиця 1
Рівень кортизолу та альдостерону в плазмі крові хворих на туберкульоз до початку лікування та в динаміці

Групи	Контрольна група (n=11)		Група ПТП+КС (n=23)		Група ПТП (n=15)	
	Кортизол, М±m, нг/мл	Альдостерон, М±m, пг/мл	Кортизол, М±m, нг/мл	Альдостерон, М±m, пг/мл	Кортизол, М±m, нг/мл	Альдостерон, М±m, пг/мл
До початку лікування	161,98±23,92	117,87±10,85	244,41±7,77*#	93,0±4,34*#	231,89±13,55*#	88,09±10,14*#
Через 2-3 місяці			229,41±9,26*#	109,46±5,98^	200,89±12,69	87,56±7,61*#
При виписці			202,5±3,99	76,3±2,45^#	194,13±8,87	112,25±4,97

Примітка: * - різниця вірогідна порівняно з даними при виписці в середині групи ($p < 0,05$ - $p < 0,001$);

^ - різниця вірогідна порівняно з відповідними даними групи ПТП ($p < 0,05$ - $p < 0,001$);

- різниця вірогідна порівняно з даними контрольної групи ($p < 0,05$ - $p < 0,001$).

Так, вже через 2-3 місяці лікування у 86,96% хворих групи ПТП+КС, яким додатково призначався преднізолон, припинилося бактеріовиділення, у 43,48% - закрилися порожнини розпаду, у 47,83% - інфільтративні та вогнищеві зміни в легенях вже розсмоктувалися або ущільнилися та у 69,57% хворих - нормалізувалися показники гемограми. У хворих групи ПТП, які приймали тільки хіміопрепарати, результати виявилися гіршими: 46,67%, 20,0%, 26,67% та 33,33%, відповідно.

Виявлені тенденції збереглися і наприкінці лікування. Ефективність лікування у хворих групи ПТП+КС: абацилювання досягнуто у 91,33%, закриття каверн - у 73,91%, розсмоктування або ущільнення інфільтративних та вогнищевих змін - у 86,96%, нормалізації показників гемограми - у 95,65%, порівняно з пацієнтами групи ПТП, відповідно (66,67%, 40,0%, 53,33%, 66,67%).

Високий рівень мінералокортикоїдів (альдостерону), виявлений у хворих групи ПТП наприкінці лікування, підтримував прозапальний потенціал тканин, обумовлюючи пригнічення протизапальної дії глюкокортикоїдів, чим сприяв збільшенню строків лікування і зниженню його ефективності. Так, після 6 місяців

лікування у 60% (середній рівень альдостерону $102,6 \pm 5,63$ пг/мл) хворих групи ПТП, які приймали тільки протитуберкульозні препарати, ще зберігалися інфільтративні зміни в легенях, у 73,3% (середній рівень альдостерону - $104,35 \pm 5,49$ пг/мл) - ще не закрилися порожнини розпаду і у 46,67% (середній рівень альдостерону $121,04 \pm 5,69$ пг/мл) - відмічалися зміни показників гемограми. Отримані результати частково співпадають з даними іншого автора [9], який вказував на підвищення рівня альдостерону ($105,6 \pm 10,5$ пг/мл) у хворих на туберкульоз при закритті каверн після 6 місяців лікування, порівняно з тими, в кого вони загоїлися протягом перших 6 місяців лікування ($86,2 \pm 7,5$ пг/мл). Інші показники ефективності лікування автор не враховував.

Співвідношення кортизол/альдостерон до початку лікування та в динаміці у хворих обох груп представлено в табл. 2, з якої видно, що до початку лікування та через 2-3 місяці воно суттєво не відрізнялось, але наприкінці лікування у хворих групи ПТП спостерігалось різке зниження співвідношення кортизол/альдостерон ($1,77 \pm 0,07$ пг/мл). При детальному аналізі особливостей перебігу хвороби у цих пацієнтів було з'ясовано, що у більшості хворих з найнижчи м

показником співвідношення кортизолу до альдостерону довше зберігалися інфільтративні зміни в легенях, що сприяло більш низькій ефективності лікування

хворих, які приймали тільки протитуберкульозні препарати.

Таблиця 2
Співвідношення кортизол/альдостерон до початку лікування та в динаміці, $M \pm m$

Група \ Термін	До початку лікування	Через 2-3 місяці	При виписці
Група ПТП+КС (n=23)	2,87±0,13^	2,51±0,18^	2,8±0,05*^
Група ПТП (n=15)	3,15±0,25*^	2,56±0,2*^	1,77±0,07
Контрольна група (n=11)		1,42±0,13	

Примітка: * - різниця вірогідна порівняно з даними при виписці групи ПТП ($p < 0,001$);

^ - різниця вірогідна порівняно з контролем ($p < 0,05$ - $p < 0,001$).

Висновки

1. До початку лікування у хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень з бактеріовиділенням спостерігається значне підвищення рівня кортизолу і зниження рівня альдостерону в плазмі крові, порівняно з даними контрольної групи.

2. Додавання екзогенних кортикостероїдів з урахуванням добового біоритму функції наднирників до комплексного лікування хворих з вперше діагностованим деструктивним туберкульозом легень не пригнічує, а здійснює помірну стимулюючу дію на функцію кори наднирників, що проявляється більш повільною нормалізацією рівня кортизолу і незначним підвищенням рівня альдостерону в плазмі крові, чим сприяє скороченню термінів та підвищенню ефективності лікування.

3. Високий рівень мінералокортикоїдів (альдостерону) підтримує прозапальний потенціал тканин, обумовлюючи пригнічення протизапальної дії глюкокортикоїдів, чим сприяє збільшенню строків лікування і зниженню його ефективності та може розглядатися, як прогностично несприятливий фактор, щодо прогнозу перебігу та лікування туберкульозу у таких хворих.

Література

1. Авторское свидетельство 1321421 А1 SU, МПК А61К 37/24. Способ лечения туберкулеза легких / Нореико Б.В., Ярешко А.Г.; заявитель Полтавский медицинский стоматологический институт. - № 3242857/28-14; заявлено 29.12.1980; опубликовано 07.07.1987, Бюлетень № 25, 1987 г.
2. Гурьева И.Г. Биохимические механизмы различного течения инфильтративно-пневмонического туберкулеза (клинико-лабораторные и экспериментальные исследования): автореф. дис. ... доктора мед. наук: 14.00.26 «Фтизиатрия» / И.Г. Гурьева. - М., 1974. - 33 с.
3. Егорова И.Л. Значение эндокринного статуса в течении и исходе туберкулеза легких: автореф. дис. ... доктора мед. наук: 14.00.26 «Фтизиатрия» / И.Л. Егорова - М., 1999. - 46 с.

4. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика: учебное пособие / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский [и др.]. - 2-е изд. - СПб. : Фолиант, 2006. - 432 с.
5. Кузьмін М.М. Вплив диференційованого патогенетичного лікування на показники ренін-ангіотензин-альдостеронової системи залежно від фази патологічного процесу у вперше діагностованих хворих на деструктивний туберкульоз легень / М.М. Кузьмін // Галицький лікарський вісник. - 2005. - Т. 12, № 1 [ч. 2]. - С. 41 - 44.
6. Мишин В.Ю. Роль лимфоцитов и кортикостероидов в патогенезе казеозной пневмонии / В.Ю. Мишин // Проблемы туберкулеза. - 2004. - № 7. - С. 21-24.
7. Наказ МОЗ України № 384 від 09.06.2006 р. «Про затвердження Протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз». - К., 2006. - 87 с.
8. Радзевич А.Э. Активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и ее влияние на эффективность лечения хронической сердечной недостаточности у больных туберкулезом легких / А.Э. Радзевич, А.Е. Дитятков, В.А. Тихонов // Проблемы туберкулеза. - 2001. - № 5. - С. 16-19.
9. Шарунов С.И. Гормональные воздействия на клинко-функциональные признаки фиброза при лечении туберкулеза легких: автореф. дис. ... кандидата мед. наук: 14.00.26 «Фтизиатрия» / С.И. Шарунов. - М., 1988. - 25 с.
10. Ярешко А.Г. Глюкокортикоїдна терапія як метод патогенетичного лікування вперше діагностованого деструктивного туберкульозу легень / А.Г. Ярешко, В.М. Ждан, М.В. Куліш [та інш.] // Світ медицини та біології. - 2009. - № 2. - ч.1. - С. 56-60.
11. Ярешко А.Г. Клинико-патогенетическое обоснование коррекции функциональных нарушений надпочечников и иммунологической реактивности как возможность совершенствования терапии туберкулеза легких: автореф. дис. ... доктора мед. наук: 14.00.26 «Фтизиатрия» / А.Г. Ярешко. - К., 1990. - 43 с.
12. Ярешко А.Г. Роль кортикостероїдів у лікуванні вперше діагностованого деструктивного туберкульозу легень з первинною резистентністю мікобактерій туберкульозу / А.Г. Ярешко, М.В. Куліш, О.А. Пось // Світ медицини та біології. - 2012. - № 1. - С. 106-109.
13. Adrenocortical function in patients with active pulmonary tuberculosis / Alvarez de la Cruz, J. Montes Santiago, T. Cerda Mota [et al.] // Annals of Internal Medicine. - 1997. - Vol. 14(12). - P. 611-614.

English version: INFLUENCE CORTICOSTEROIDS ON THE FUNCTION OF THE ADRENAL CORTEX FOR PATIENTS WITH FIRSTLY DAIGNOSED DESTRUCTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS*

Kulish M.V.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

To study the effect of exogenous corticosteroids on adrenal function by tuberculosis the level of plasma cortisol and aldosterone in patients that were first diagnosed with destructive pulmonary tuberculosis, their correlation, and changes in the treatment process were defined. Before treatment in patients with destructive pulmonary tuberculosis diagnosed for the first time a significant increasing the cortisol level and decreasing aldosterone in plasma, compared with the data of the control group were observed. Addition of exogenous corticosteroids is not depressing, considering the daily biorhythm of adrenal function to the complex treatment of patients diagnosed with the destructive pulmonary tuberculosis for the first time, but has a modest stimulatory effect on the function of the adrenal cortex, wich results in slower normalization of cortisol level and a slight increase the level of aldosterone in plasma; thus promotes reducing terms and increasing the efficiency of treatment. The high level of mineralocorticoids (aldosterone) supports the anti-inflammatory potential of tissues, causing suppression of anti-inflammatory effect glucocorticoids, contributing to the increasing terms of treatment and reduction of its effectiveness and can be considered as an adverse prognostic factor, regarding prognosis and treatment of tuberculosis in these patients.

Key words: tuberculosis, the function of the adrenal glands, cortisol, aldosterone, treatment, corticosteroids

One of the most important factors of homeostasis support in the body under intoxication stress is the function of the adrenal cortex, which provides adaptive processes by biosynthesis of cortisol and aldosterone, which are factors of anti-inflammatory and anti-inflammatory potential of tissue forming characteristics of the pathological process. Glucocorticoids and mineral corticoids have oppositely direct effect. Glucocorticoids (cortisol) make anti-inflammatory effect, and mineral corticoids (aldosterone) potentiate the inflammatory process. If the glucocorticoid function of the adrenal tuberculosis was widely studied in 70-80 years of the last century [2, 3, 11, 13], so in general, their mineral corticoid functions were self without attention. There are only a few works, including in which was made determination the level of aldosterone [9, 11], corticosterone [2, 6] and several works in which estimated function of the renin-angiotensin-aldosterone system in tuberculosis [5, 8], but a complex study of both glucocorticoid and mineral corticoid function of adrenal tuberculosis wasn't conducted, although their study is essential in the correction the inflammatory potential of tissues during pathological processes, including, tuberculosis.

Determination of cortisol and aldosterone level in plasma of patients with tuberculosis and their correlation and study of the changes of level of these hormones with the influence of corticosteroid (CS) therapy may reveal mechanisms of sanogenesis during treatment of tuberculosis. The purpose of the work was to determine the level of plasma cortisol and aldosterone, their correlation in patients firstly diagnosed of destructive pulmonary tuberculosis, and studied their changes during treatment and with the influence of glucocorticosteroid drugs.

Materials and methods

The level of cortisol and aldosterone was determined in 38 patients with firstly diagnosed destructive pulmonary tuberculosis with excretion mycobacterium tuberculosis who were hospitalized in the Poltava Regional Clinical TB Dispensary. Depending on the mode of treatment,

all patients were divided into two groups. The group ATD+CS - 23 patients received standard anti-TB chemotherapy [7] with the additional purpose of the intensive phase of prednisolone given daily biorhythm of the adrenal function (20 mg every other day, in the morning, once, for at least 2 months, with removal of the drug once, without reducing pharmacotherapeutic dose) [1, 10, 12]. The ATD group – 15 patients received only anti-TB drugs (ATD) in standard mode. By sex, age, clinical forms and severity of tuberculosis process groups were identical. The control group consisted of 11 healthy volunteers. During the research, patients' rights were taken into account in accordance with the Helsinki Convention.

The hormonal researches were made at the Research Institute for Genetic and immunological grounds of pathology and pharmacogenetics of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy" in Poltava by modern standard kits (DRG ® Cortisol ELISA (EIA 1887) and DRG ® Aldosterone ELISA (EIA 4128), DRG International Inc., USA). Blood sampling for researches were made in the morning (7³⁰-8³⁰), on an empty stomach. In order to eliminate the influence of various factors on the results of research, they excluded medication for 5-7 days to the taking of blood that can affect for hormone level in blood, they were advised to keep mental calm, do not drink alcohol and do not abuse salty food. The hormone level was determined in patients on hospitalization (before treatment), in 2-3 months (after the intensive phase of treatment) and before discharge from the hospital.

Efficiency of treatment was determined by the dynamics of the clinical manifestations of the disease, normalization of hemogram, suspension of excretion mycobacterium tuberculosis, resorption focal and infiltrative changes or sealing and healing cavities. Statistical analysis of the results of researching was made with help of spreadsheets Microsoft Office Excel 2007 [4] with the definition of the average value of its average error and Student's t-

* To cite this English version: Kulish M.V. Corticosteroids on the function of the adrenal cortex for patients with firstly daignosed destructive pulmonary tuberculosis // Problemy ekologii ta medytyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 24 -26.

test. The difference between the parameters that were studied was considered reliable at $p < 0,05$.

Results and discussions

Before treatment the patients with tuberculosis of both experimental groups showed a significant increase in the average level of cortisol ($244,41 \pm 7,77$ and $231,89 \pm 13,55$ ng / ml, $p > 0,05$, respectively) decreasing the average level of aldosterone ($93,0 \pm 4,34$ and $88,09 \pm 10,14$ pg/ml, $p > 0,05$) compared with the data of the control group (table 1). At the end of the intensive phase of treatment (after taking prednisone of sick people of the group ATD+CS) in both groups was marked decreasing the level in cortisol ($229,41 \pm 9,26$ and $200,89 \pm 12,69$ ng/ml, $p > 0,05$), more pronounced decreasing was the patients from the ATD group, that received only anti-TB drugs. This trend was observed at the end of treatment ($202,5 \pm 3,99$ and $194,13 \pm 8,87$ ng/ml, $p > 0,05$, respec-

tively). The aldosterone level increased after 2-3 months of treatment the patients from ATD+CS group ($109,46 \pm 5,98$ pg/ml), whereas it has not changed at the ATD group ($87,56 \pm 7,61$ pg/ml, $p < 0,05$). The patients from the ATD+CS group showed a significant decreasing of aldosterone at the end of treatment ($76,3 \pm 2,45$ pg/ml) and the patients from the ATD group was a significant increase its - ($112,25 \pm 4,97$ pg/ml, $p < 0,001$).

Identified trends are related to the fact that additional purpose of prednisone, given the daily biorhythm of the adrenal function, the patients from ATD+CS were made modest stimulatory effect at adrenal function without causing its depression, which manifested a moderate pace normalize cortisol level and a slight increase aldosterone levels after 2-3 months of treatment, in contrast to the indicators of ATD patients and led to increasing the efficiency of treatment the patients of ATD+CS group.

Table 1
The level of cortisol and aldosterone in plasma of TB patients before treatment and in the dynamics

Groups Time	Control group (n=11)		Group ATD+CS (n=23)		Group ATD (n=15)	
	Cortisol, M±m, ng/ml	Aldosterone, M±m, pg/ml	Cortisol, M±m, ng/ml	Aldosterone, M±m, pg/ml	Cortisol, M±m, ng/ml	Aldosterone, M±m, pg/ml
Before treatment	161,98±23,92	117,87±10,85	244,41±7,77*#	93,0±4,34*#	231,89±13,55*#	88,09±10,14*
After 2-3 months of treatment			229,41±9,26*#	109,46±5,98*^	200,89±12,69	87,56±7,61*#
At discharge			202,5±3,99	76,3±2,45^#	194,13±8,87	112,25±4,97

Note: * - the difference is likely compared to the data at discharge within the group ($p < 0,05$ - $p < 0,001$);

^ - the difference is likely compared with the corresponding data of the ATD group ($p < 0,05$ - $p < 0,001$);

- The difference is likely to compared to the data of the control group ($p < 0,05$ - $p < 0,001$).

So, 86,96% of patients from the ATD+CS group, which additionally administered prednisone, after 2-3 months of treatment surcease excretion mycobacterium tuberculosis, 43,48% of patients - closed cavity decay, 47,83% of patients - dissolved or sealed the focal and infiltrative changes in the lungs and 69,57% of patients - normalized hemogram values. The results were worse: 46,67%, 20,0%, 26,67% and 33,33% respectively at the patients of ATD group, who received only chemotherapy.

Identified trends were the same at the end of treatment too. The patients from the ATD+CS group of the effectiveness of treatment achieved: surcease excretion mycobacterium tuberculosis - 91,33%, the closing of cavities - 73,91% resorption or sealing of the focal and infiltrative changes - 86,96%, the normalization of hemogram - 95,65% compared with patients of the ATD group (66,67%, 40,0%, 53,33%, 66,67%, respectively).

The high level of mineralocorticoids (aldosterone) was found from the patients ATD group at the end of treatment, supported pro-inflammatory potential of the tissues, causing suppression of anti-inflammatory the effect of glucocorticoids what influenced for the time of treatment and reduce its effectiveness. So, after 6 months of treatment, 60% (the average level of aldosterone $102,6 \pm 5,63$ pg/ml) of the patients of ATD group, who took only anti-TB drugs, has remained infiltrative changes in the

lungs, 73,3% (average aldosterone - $104,35 \pm 5,49$ pg/ml) - it has not closed the cavity of decay yet and 46,67% (the average level of aldosterone $121,04 \pm 5,69$ pg/ml) - were noted the hemogram changes. The received results are partially the same with the data of another author [7], who pointed out the increasing the level of aldosterone ($105,6 \pm 10,5$ pg/ml) the patients with tuberculosis that cavities close after 6 months of treatment, compared with those whom they healed during the first 6 months of treatment ($86,2 \pm 7,5$ pg/ml). The author didn't take into account the other indicators of the effectiveness of treatment.

The correlation of cortisol / aldosterone before treatment and in the dynamics of the patients in both groups is presented in the table 2, from which we can see that before treatment and after 2-3 months it did not differ significantly, but at the end of treatment the patients from the ATD group demonstrated a sharp decrease in the ratio of cortisol / aldosterone ($1,77 \pm 0,07$ pg/ml). In a detailed analysis of the characteristics of the disease in these patients it was found, that the majority of patients with the lowest ratio of cortisol to aldosterone maintained infiltrative changes in the lungs longer which promoted the lower effectiveness of treatment for patients who received only anti-TB drugs.

Table 2
The correlation of cortisol/aldosterone before treatment and in the dynamics, M±m

Groups Time	Before treatment	After 2-3 months of treatment	At discharge
Group ATD+CS (n=23)	2,87±0,13^	2,51±0,18^	2,8±0,05*^
Group ATD (n=15)	3,15±0,25*^	2,56±0,2*^	1,77±0,07
Control group (n=11)	1,42±0,13		

Note: * - the difference is likely compared to the data at discharge of the ATD group ($p < 0,001$);

^ - the difference is likely compared to the data of the control group ($p < 0,05$ - $p < 0,001$).

Conclusions

1. Before treatment in patients with firstly diagnosed destructive pulmonary tuberculosis with excretion mycobacterium tuberculosis a significant increasing the cortisol level and decreasing aldosterone in plasma, compared with the data of the control group. were observed

2. Addition of exogenous corticosteroids is not depressing, considering the daily biorhythm of adrenal function to the complex treatment of patients with firstly diagnosed destructive pulmonary tuberculosis, but has a modest stimulatory effect on the function of the adrenal cortex, which results in slower normalization of cortisol level and a slight increase the level of aldosterone in plasma; thus promotes reducing terms and increasing the efficiency of treatment.

3. The high level of mineralocorticoids (aldosterone) supports the anti-inflammatory potential of tissues, causing suppression of anti-inflammatory effect glucocorticoids, contributing to the increasing terms of treatment and reduces its effectiveness and can be considered as an adverse prognostic factor, regarding prognosis and treatment of tuberculosis in these patients.

References

1. Avtorskoe svidetel'stvo 1321421 A1 SU, MPK A61K 37/24. Sposob lechenija tuberkuleza legkih / Norejko B.V., Jaresenko A.G.; zajavitel' Poltavskij medicinskij stomatologicheskij institut. - № 3242857/28-14; zajavleno 29.12.1980; opublikovano 07.07.1987, Bjuletin' № 25, 1987 g.
2. Gur'eva I.G. Biohimicheskie mehanizmy razlichnogo techenija infil'trativno-pnevmonicheskogo tuberkuleza (kliniko-laboratornye i jeksperimental'nye issledovanija): avtoref. dis. ... doktora med. nauk: 14.00.26 «Ftiziatrija» / I.G. Gur'eva. - M., 1974. - 33 s.
3. Egorova I.L. Znachenie jendokrinnogo statusa v techenii i ishode tuberkuleza legkih: Avtoref. dis. ... doktora med. nauk: 14.00.26 «Ftiziatrija» / I.L. Egorova I.L. - M., 1999. - 46 s.
4. Zajcev V. M. Prikladnaja medicinskaja statistika: uchebnoe posobie / V. M. Zajcev, V. G. Lifljandskij [i dr.]. - 2-e izd. - SPb. : Foliant, 2006. - 432 s.
5. Kuzmin M.M. Vplyv dyferentsiiovanogo patogeneticheskogo likuvannia na pokaznyky renin-angiotenzyn-aldosteronovoi systemy zalezno vid fazy patologicheskogo protsesu u vpershe diagnostovanyh hvoryh na destruktivnyi tuberkuloz legen / M.M. Kuzmin // Galytskyi likarskyi visnyk. - 2005. - T. 12, № 1 [ch. 2]. - S. 41 - 44.
6. Mishin V.Ju. Rol' limfocitov i kortikosteroidov v patogeneze kazeoznoj pnevmonii / V.Ju. Mishin // Problemy tuberkuleza. - 2004. - № 7. - S. 21-24.
7. Nakaz MOZ Ukrainy № 384 vid 09.06.2006 r. «Pro zatverdzhennia Protokolu nadannia medychnoi dopomogy hvorym na tuberkuloz». - K., 2006. - 87 s.
8. Radzevich, A.Je. Aktivnost' renin-angiotenzinal'dosteronovoi systemy i ee vlijanie na jeffektivnost' lechenija hronicheskoi serdechnoi nedostatochnosti u bol'nyh tuberkulezom legkih / A.Je. Radzevich, A.E. Ditjatkov, V.A. Tihonov // Problemy tuberkuleza. - 2001. - № 5. - S. 16-19.
9. Sharunov S.I. Gormonal'nye vozdeystvija na kliniko-funkcional'nye priznaki fibroza pri lechenii tuberkuleza legkih: Avtoref. dis. ... kandidata med. nauk: 14.00.26 «Ftiziatrija» / S.I. Sharunov. - M., 1988. - 25 s.
10. Yaresenko A.G. Gliukokortykoidna terapija yak metod patogeneticheskogo likuvannia vpershe diagnostovanogo destruktivnogo tuberkulozu legen / A.G. Yaresenko, V.M. Zhdan, M.V. Kulish [ta in.] // Svit medycyny ta biologii. - 2009. - № 2. - ch.1. - s. 56-60.
11. Yaresenko A.G. Kliniko-patogeneticheskoe obosnovanie korrekcii funkcional'nyh narushenij nadpochechnikov i imunologicheskoi reaktivnosti kak vozmozhnost' sovershenstvovanija terapii tuberkuleza legkih: Avtoref. dis. ... doktora med. nauk: 14.00.26 «Ftiziatrija» / A.G. Jaresenko. - K., 1990. - 43 s.
12. Yaresenko A.G. Rol' kortykosteroidiv u likuvanni vpershe diagnostovanogo destruktivnogo tuberkulozu legen z pervynnoiu rezystentnistiu mikobakterii tuberkulozu / A.G. Yaresenko, M.V. Kulish, O.A. Pos // Svit medycyny ta biologii. - 2012. - № 1. - S. 106-109.
13. Adrenocortical function in patients with active pulmonary tuberculosis / Alvarez de la Cruz, J. Montes Santiago, T. Cerda Mota [et al.] // Annals of Internal Medicine. - 1997. - Vol. 14(12). - P. 611-614.

Матеріал надійшов до редакції 5.09.2013 р.

© Ляховська Н.В.

УДК [577.21:616.5-002]-053.3/.5

ЗВ'ЯЗОК ПОЛІМОРФІЗМА ГЕНА TLR4 З КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ПРИ АТОПІЧНІЙ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ*

Ляховська Н.В.

Науково-дослідний інститут генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Исследована значимость полиморфизма Asp299Gly с заменой А на G в позиции 896 (rs4986790) гена TLR4 и связь с иммунорегуляторными факторами в механизмах развития atopической бронхиальной астмы (АБА). Нами было обследовано 45 человек больных АБА. Диагноз АБА и степень ее тяжести установлен в соответствии с утвержденными критериями полиморфизм гена TLR4 896 A/G статистически достоверно ($p = 0,04$) встречается в группе больных АБА чем у практически здоровых лиц, что позволяет рассматривать ген TLR 4, как ген-кандидат этого заболевания. У больных, которые несут аллель 896G гена TLR4 заболевание начиналось с детства ($p = 0,03$), в спектре сенсibilизации присутствовали пищевые факторы ($p = 0,02$) и проявления другой аллергической патологии ($p = 0,045$). Единичный нуклеотидный полиморфизм гена TLR4 у больных atopической астмой с компенсированным течением характеризуется существенным снижением уровня IL-10, абсолютного количества $CD4^+ / 25^+ / Foxp3^+$ - клеток и отсутствием взаимосвязей этих лимфоцитов с другими иммунологическими показателями. Исследование генетических аспектов atopической бронхиальной астмы позволяют оптимизировать лечебно-диагностические протоколы данной патологии и способствуют внедрению профилактических мероприятий по развитию и распространению аллергических заболеваний

Ключевые слова: atopическая астма, Толл-рецептор, полиморфизм.

Бронхіальна астма - це приклад мультифакторної патології, яка виникає при взаємодії факторів навколишнього середовища й спадкової схильності. В останні роки поряд із клініко - функціональними, імунологічними дослідженнями активно проводиться вивчення генетичних основ atopічної бронхіальної астми (АБА), оскільки такий підхід дозволяє розширити уявлення про механізми розвитку цього складного патологічного фенотипу [19]. Вивчення генетичних аспектів схильності до бронхіальної астми створюють нові перспективи в розробці діагностичних критеріїв, індивідуальних програм профілактики й стратегії лікування atopічної патології [4, 15].

Генетика вродженого імунітету стала центром активних міжнародних досліджень, як можлива патогенетична ланка atopії [1]. Значна увага сконцентрована концепції одиничних замін у геномі ДНК (однонуклеотидний поліморфізм — ОНП), які кодують структуру Toll-подібного рецептора 4, порушуючи тим самим регуляцію вродженої імунної системи при взаємодії із цілим рядом антигенів, що може бути ключовим фактором дисбалансу різних видів хелперних лімфоцитів у хворих на АБА [2, 3]. Доведена важлива роль цих патерн-розпізнавальних рецепторів у патогенезі ряду захворювань: atopічної БА у дітей [14], уrogenітальних інфекцій [13], запальних хвороб пародонту [16], сприйнятливості до інфекції у ВІЛ-інфікованих [6], цукрового діабету [17], ревматоїдного артриту [12], хронічного саркоїдозу [5].

Вивчення розповсюдженості ОНП TLR 4 у хворих на АБА викликає особливу зацікавленість, оскільки,

відмінності в генах, що контролюють захисні реакції організму можуть визначати різний характер перебігу запального процесу і специфічних імунологічних реакцій.

Мета дослідження оцінити значимість поліморфізму Asp299Gly зі зміною аденіна на гуанін в позиції 896 (rs4986790) гену TLR4 та його зв'язок з імунорегуляторними факторами в механізмах розвитку АБА.

Матеріали та методи

Нами було обстежено 45 осіб хворих на АБА. Діагноз АБА та ступінь її тяжкості встановлено відповідно до затверджених критеріїв (наказ МОЗ України №767 та міжнародні рекомендації GINA, 2011) на базі алергологічного і пульмонологічного відділення Полтавської обласної клінічної лікарні. Анамнестичні дані зібрані шляхом анкетування з використанням спеціального опитувальника. Усім пацієнтам з АБА були проведені загальноклінічні лабораторні, інструментальні та алергологічне обстеження. Наявність сенсibilізації до алергенів діагностовано шляхом проведення шкірного тестування (прик-тест) з основними аероалергенами (побутовими, пиловими, епідермальними, грибовими) і харчовими алергенами (ТОВ «Імунолог», м. Вінниця). Обстеження проводили за умов відсутності у пацієнта загострення основного чи супутніх хронічних, відсутності гострих інтеркурентних інфекційних захворювань та тяжкої супутньої патології, яка б могла вплинути на результати дослідження. До групи кон-

* Цитування при атестації кадрів: Ляховська Н.В. Зв'язок поліморфізму гена TLR4 з клініко-імунологічними показниками при atopічній бронхіальній астмі. — 2013. — Т. 17, № 3-4. — С. 27-30.

тролю увійшли 90 практично здорових осіб, без алергологічного анамнезу з бази ДНК НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Дослідження проводили відповідно наданої письмової згоди на проведення обстеження та ухвали комісії з етичних питань та біоетики вказаного навчального закладу. Виділення геномної ДНК здійснювали методом фенол-хлороформної екстракції. Визначення поліморфізму 896A/G гену TLR4 проведено методом полімеразної ланцюгової реакції з використанням специфічних праймерів [13]. Фенотип лімфоцитів аналізували шляхом визначення рівнів експресії поверхневих антигенів клітин з використанням моноклональних антитіл CD4, CD25 (виробництво «Сорбент», Росія) та внутрішньоклітинного білку FoxP3 («eBioscience», США) методом проточної цитофлюориметрії. Визначення проводили на проточному цитофлюорометрі EPIX LX-MCL (Beckman Coulter, США), використовуючи програму System II TM software, рівень загального

IgE, інтерлейкіну-4,10 (ТОВ «Укрмед-Дон», Україна) визначали в сироватці крові за допомогою непрямого імуноферментного аналізу. Математичну обробку отриманих даних здійснювали з використанням програми «STATISTICA 6.0» (StatSoft Inc).

Результати дослідження та їх обговорення

Було проаналізовано частоту поліморфізму Asp299Gly зі зміною аденіну на гуанін в позиції 896 (rs 4986790) ген у TLR4 у хворих на АБА та в групі популяційного контролю (табл.1). У зразках ДНК 90 осіб, що входили до групи контролю, мутантний генотип GG не був виявлений, частота гетерозиготного генотипу AG складала 4,5% (4 особи), частота «дикого» генотипу AA становила 95,6% (86 осіб). У хворих на АБА відповідні дані були такими: GG – не був виявлений, AG – 15,6% (7 осіб), генотип AA – 84,4% (38 осіб), тобто між частотами генотипів у групі контролю та у хворих на АБА відмічається достовірна різниця ($p = 0,04$), що характеризує ген TLR 4, як ген - кандидат в розвиток АБА.

Таблиця 1
Розподіл частот генотипів та алелей гену TLR4 у хворих на АБА та в групі контролю

Генотип, алель	Популяційний контроль (n=90)	Хворі на АБА (n=45)	p*
AA	95,6 (86)	84,4 (38)	0,04
AG	4,5 (4)	15,6 (7)	
GG	0	0	
G	97,8 (176)	92,2 (83)	0,06
A	2,2 (4)	7,8 (7)	

Особливістю хворих, що є носіями мутантної алелі (табл.2.) є прояви полісенсibilізації, а саме поєднання побутової та пилової алергії з харчовими факторами - це відмічено у всіх 7 хворих ($p = 0,013$). У 6 осіб цієї групи ($p=0,03$) прояви АБА починалися в ранньому дитинстві; 4 пацієнти пройшли типові етапи

«атопічного маршу». Характерною клінічною ознакою вказаного ОНП TLR4 була супутня алергічна патологія (риніт та кон'юнктивіт) ($p=0,045$). Переважна більшість хворих мали захворювання ШКТ та часті прояви ГРВІ.

Таблиця 2
Клінічні особливості перебігу АБА в залежності від поліморфізму 896A/G гену TLR4

Наявність ознаки		Хворі на АБА носії «дикої» алелі A TLR4, (n=38)	Хворі на АБА носії мутантної алелі G гену TLR4, (n=7)	p*
Полісенсibilізація, що включає харчові фактори	так	7	7	0,013
	ні	31	0	
Супутні алергічні захворювання (риніт, кон'юнктивіт)	так	6	5	0,045
	ні	32	2	
В анамнезі прояви «атопічного маршу»	так	7	6	0,029
	ні	31	1	
Часті ГРВІ	так	17	5	0,344
	ні	21	2	

При аналізі даних, що характеризують стан імунної системи у носіїв гомо- та гетерозиготи TLR4 - нами виявлено ряд цікавих фактів, які можуть відігравати важливу роль у розумінні особливостей імуннопатогенезу АБА.

Грунтуючись на класичних положеннях сучасної імунологічної науки [7] можна відмітити ознаки дисбалансу у діяльності імунної системи у вказаних групах хворих з компенсованим перебігом АБА. Це в першу чергу стосується високої активності CD4 - лімфоцитів. Характерною ознакою (табл.4) компенсованого перебігу АБА у пацієнтів з гетерозиготними змінами TLR4 є зменшення кількості (з 17 до 6) статистично достовірних взаємозв'язків та суттєве збільшення сили кореляції цих зв'язків, як приклад - пряма кореляція між рівнями IgE та IL4, яка відображає типовий для АБА взаємозв'язок імунорегулюючої та

ефекторної ланок патогенезу. Відмічені достовірні зміни рівня CD4⁺/25⁺/Foxp3⁺ та IL10 у хворих з поліморфізмом 896A/G гену TLR4 (табл.3). Як відомо, вказаний інтерлейкін є одним із двох основних ефекторних медіаторів T-reg клітин [18, 8]. Зміни рівня IL-10 можна розглядати, як системну імунну реакцію, як натуральних, так й індукованих T-регулюючих лімфоцитів - це підтверджують ряд авторів [11].

Факт достовірного зменшення рівня CD4⁺/25⁺/Foxp3⁺ у взаємозв'язку з його основним медіатором - IL10 у носіїв гетерозиготного варіанту гена TLR4 може бути важливим фактором у імуногенетичному патогенезі АБА. T-reg клітини контролюють реакції не тільки адаптивного, але і вродженого імунітету, в тому числі і TLR [9]. Відомо, що завдяки наявності Толл - подібних рецепторів на поверхні вказаних регулюючих клітин вони можуть ак-

тивуватися тими ж факторами, що активують ефекторні клітини вродженого імунітету [10]. Доведено, що підсилення активності Т-регулюючих клітин в результаті повторної стимуляції патогенами обумовлено не тільки формуванням клітин пам'яті, але і експансією цих регуляторних клітин під впливом

активації через Toll - подібні рецептори [9]. Виходячи з цього, можливо, що генетичні зміни TLR4 можуть призводити до порушення в діяльності іншої складової цього механізму, в нашому випадку – супресії ланки: Т-reg- клітин та IL10.

Таблиця 3
Імунологічні показники у хворих на АБА в залежності від генотипу 896A/G гену TLR4

№	Показник	Носії "дикої алелі" (AA), хворі на АБА (n=38)	Носії мутантної алелі (AG), хворі на АБА (n=7)
1.	CD 4 ⁺ , Г/л	0,67 ± 0,07	0,78 ± 0,17
2.	CD 4 ⁺ /25 ⁺ , Г/л	0,16 ± 0,02	0,27 ± 0,08
3.	CD 4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ , Г/л	0,07 ± 0,01 *	0,03 ± 0,01*
4.	Лейкоцити, Г/л	6,55 ± 0,4	8,7 ± 1,89
5.	Еозинофіли, Г/л	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,02
6.	Лімфоцити, Г/л	1,47 ± 0,13	2,05 ± 0,45
7.	IgE, МОд	163,8 ± 14,4	170,8 ± 45,8
8.	IL10, пг/л	0,45 ± 0,02 *	0,35 ± 0,03*
9.	IL 4, пг/л	63,09 ± 9,28	38,6 ± 8,18

* $p \leq 0,05$ у порівнянні з групою осіб носіїв "дикої алелі".

Таблиця 4
Сила кореляційного зв'язку імунологічних показників в залежності від генотипу 896A/G гену TLR4

	Кореляційні пари *	Носії "дикої алелі" (AA), хворі на АБА (n=38)	Носії мутантної алелі (AG), хворі на АБА (n=7)
1	CD4 ⁺ та CD4 ⁺ /25 ⁺	0,47	--
2	CD4 ⁺ та CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺	0,54	--
3	CD4 ⁺ та лейкоцити	0,73	0,93
4	CD4 ⁺ та еозинофіли	0,49	--
5	CD4 ⁺ та лімфоцити	0,87	0,99
6	CD4 ⁺ /25 ⁺ та лімфоцити	0,54	--
7	CD4 ⁺ /25 ⁺ та лейкоцити	--	0,81
8	CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ та лейкоцити	0,46	--
9	CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ та лімфоцити	0,41	--
10	CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ та IL10	0,52	--
11	Лейкоцити та еозинофіли	0,59	--
12	Лейкоцити та лімфоцити	0,75	0,92
13	Еозинофіли та лімфоцити	0,60	--
14	IgE та IL4	0,63	0,96
15	IL10 та IL4	--	-0,77

* - Всі вказані пари є статистично достовірними ($p \leq 0,05$)

Підтвердженням положень [20] про важливість імунорегулюючої дії CD4⁺/25⁺/Foxp3⁺ у хворих на АБА може бути поява у осіб із гетерозиготними змінами гену TLR4 достатньої сили негативнаправленого кореляційного взаємозв'язку IL10 та IL4, які характеризують супресивну дію одного з основних медіаторів Т-reg- клітин на індуктор синтезу алергозначущих імуноглобулінів.

Висновки

1. Поліморфізм гену TLR4 896 A/G статистично вірогідніше частіше ($p = 0,04$) зустрічається в групі хворих на АБА ніж у практично здорових осіб, що дозволяє розглядати ген TLR4, як ген-кандидат в розвитку цього захворювання.

2. У хворих, які несуть алель 896G гену TLR4 захворювання починалось з дитинства ($p = 0,03$), в спектрі сенсibiliзації були харчові чинники ($p = 0,02$) та мали місце прояви іншої алергічної патології ($p = 0,045$).

3. Одиничний нуклеотидний поліморфізм гену TLR4 у хворих на atopічну астму з компенсованим перебігом характеризується суттєвим зменшення рівня

IL-10, абсолютної кількості CD4⁺/25⁺/Foxp3⁺ - клітин та відсутністю взаємозв'язків цих лімфоцитів з іншими імунологічними показниками.

4. Дослідження генетичних аспектів atopічної бронхіальної астми дозволяють оптимізувати лікувально-діагностичні протоколи даної патології та сприяють впровадженню профілактичних заходів щодо розвитку та розповсюдження алергічних захворювань.

Література

1. Bottcher M. TLR4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharide-induced interleukin-12(p70) responses in Swedish children / M. Bottcher // J. Allergy clin. immunol. - 2004. - P. 561-567.
2. Ferwerda B. Functional Consequences of Toll-like Receptor 4 Polymorphisms / B. Ferwerda, M. BB. McCall, K. Verheijen, B. J. Kullberg // MOL MED. — 2008. — Vol. 14, № 5—6. — P. 346—352.
3. Garcia Rodriguez C. Toll-like receptor 4 dependent pathways as sensors of endogenous «danger» signals. New evidences and potential therapeutic targets / C. Garcia Rodriguez // Immunologia. - 2007. - Vol. 26, № 4. — P. 210—215
4. Holloway J.W. Genetics of allergic disease / J.W. Holloway, I.A. Yang, S.T. Holgate // J. Allergy. Clin. Immunol. - 2010. - № 125. - P. 81

5. Pabst S., Baumgarten G., Stremmel A. et al. Toll-like receptor (TLR) 4 polymorphisms are associated with a chronic course of sarcoidosis / Clin. Exp. Immunol. – V. 143, № 3. – P. 420-426.
6. Papadopoulos A. I., Ferwerda B., Antoniadou A. et al. Association of Toll-Like Receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile Polymorphisms with Increased Infection Risk in Patients with Advanced HIV-1 Infection / Clin. Infect. Dis. – 2010. – V. 51, № 2. – P. 242-247.
7. Peakman M.. Basic and clinical Immunology/ M. Peakman, D. Vergani.- 2 edition. –USA- 2009.- 486 p.
8. Pop S. Single cell analysis shows decreasing Foxp3 and TGFbeta coexpressing CD4+ CD25+regulatory T cells during autoimmune diabetes/ S. Pop, C. Wong, D. Culton. et al. // J Exp Med – 2005 – P 1333-1346
9. Sakaguchi S. Control of immune responses by naturally arising CD4 regulatory T cells that express toll-like receptors/ S. Sakaguchi // J. Exp. Med. – 2003. - Vol. 197. – P 397-401).
10. Taams L. S., Akbar A. N. Peripheral generation and function of CD4+CD25+ regulatory T cells // Curr. Top. Mikrobiol. Immunol. – 2005. – Vol.6. – P.152-162
11. Vahlemkamp T. W., Tompkins M. B., Tompkins W. A. The role of CD4+CD25+ regulatory T cells in viral infection // Vet. Immun. Immunopathol. – 2005 – Vol.108. – P. 219 - 225.).
12. Белоглазова К.В., Шлыкова О.А., Измайлова О.В., Кайдашев И.П. Полиморфизм гена Toll-like рецептора 4 Asp299Gly у больных ревматоидным артритом / Проблемы экол. та мед. – 2009. – Т.13, № 5-6. – С. 15-17.
13. Измайлова О.В., Шлыкова О.А., Боброва Н.О. та ін. Роль поліморфізму Toll-подібного рецептора 4 Asp299Gly у розвитку бактеріальних інфекцій, що передаються статевим шляхом / Проблеми екол. та мед. – 2009. – Т.13, № 5-6. – С. 3-6.
14. Крючко Т.О., Кайдашев І.П., Вовк Ю.О. и др. Генетичний поліморфізм Toll-подібного рецептора 4 у дітей з atopічною бронхіальною астмою / Клін. імунол. Алергол. Інфектол. – 2011. – № 5. – С. 52-54.
15. Лапшин В.Ф. Бронхіальна астма й фенотипи свистячих хрипів у дітей / В.Ф. Лапшин., Т.Р. Уманець // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2010. - № 2. - С. 66-69.
16. Островська Л.Й., Петрушанко Т.О., Кайдашев І.П. Поліморфізм Asp299Gly гена Toll-подібного рецептора 4 у генезі змін ясен у вагітних / Укр. стоматол. альманах. – 2009. – № 6 – С. 17-19.
17. Сульская Ю. В. Генетический полиморфизм Toll-like рецепторов 4 типа у больных сахарным диабетом 2 типа / Таврический медико-биологический вестник. – 2009. – Т. 12, № 3 (47). – С. 72-74.
18. Фрейдин М.Б. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функция// Мед биология. – 2005. – Т.7, №4. – С.347 - 354.
19. Фрейдин М. Б. Генетика бронхіальної астми / М. Б. Фрейдин, Л. М. Огородова, А. Н. Цой, Н. Г. Бердникова. - М. : Атмосфера, 2010. - 78 с.
20. Ярилин А.А., Донецкова А.Д. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор роста/Иммунология. – 2006 - №3. – С.176 -186

English version: RELATIONSHIP OF GENE'S POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 WITH CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN ATOPIC ASTHMA*

Lyakhovskaya N. V.

Bronchial asthma is an example of multifactorial disease that occurs in the interaction of environmental factors and genetic predisposition. The aim of the study was to evaluate the significance of polymorphism Asp299Gly change A to G at position 896 (rs4986790) TLR4 gene and its relationship with the immunoregulatory factors in the mechanisms of atopic asthma (AA). Materials and Methods: We examined 45 people AA patients. The diagnosis of the AA and its severity is set in accordance with the approved criteria. Results: TLR4 gene polymorphism 896 A / G statistically significant ($p = 0.04$) is found in the group of patients with AA than in healthy individuals, which allows us to consider TLR 4 gene as a candidate gene in the disease. In patients who carry the gene TLR4 896G allele the disease began in childhood ($p = 0.03$), the spectrum of sensitization were dietary factors ($p = 0.02$), and there were other manifestations of allergic disease ($p = 0.045$). A single nucleotide polymorphism of TLR4 gene in patients with atopic asthma is characterized by overcompensated significant reduction in IL-10, the absolute number of $CD4^+ / 25^+ / Foxp3^+$ - cells and absence of relationship between these lymphocytes and other immunological parameters. Conclusion: The study of the genetic aspects of atopic asthma optimize diagnostic and treatment protocols of this disease and contribute to the implementation of preventive measures for the development and dissemination of allergic diseases.

Key words: atopic asthma, Toll like receptor, polymorphism

Bronchial asthma is an example of multifactorial disease that occurs in the interaction of environmental factors and genetic predisposition. In recent years the study of the genetic basis of atopic asthma (AA) is actively pursued, as this approach allows to extend the understanding of the mechanisms of development of this complex pathological phenotype [19]. The study of the genetic aspects of asthma propensity to create new perspectives in the development of diagnostic criteria for individual programs of atopic disease [4,15]. Genetics of innate immunity has become a center of active international studies as a possible pathogenetic link of

atopy [1]. Much attention is focused concept on single nucleotide polymorphism in the genome DNA (SNP) coding structure of Toll - like receptor 4, that can be a key factor imbalance various lymphocytes lymphocytes in patients with AA [2, 3]. The important role of these patterns recognition receptors is prove in the pathogenesis of several diseases : atopic asthma in children [14], urogenital infections [13], inflammatory periodontal disease [16], herpesvirus infection [6], diabetes mellitus [17] rheumatoid arthritis [12], chronic sarcoidosis [5].

* To cite this English version: Lyakhovskaya N. V. Relationship of Gene's Polymorphism of Toll-like Receptor 4 with Clinical and Immunological Parameters in atopic asthma // Problemy ekologii ta medytyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 30 -33.

The aim of the study is to evaluate the significance of polymorphism Asp299Gly change A to G at position 1187 (rs4986790) TLR4 gene and its relationship with the immunoregulatory factors in the mechanisms of AA.

Materials and Methods

We examined 45 people patients with AA. The diagnosis of the AA and its severity is set in accordance with the approved criteria (international recommendations GINA, 2011) on the basis of allergy and pulmonary department of the Poltava Regional Hospital. History data collected using by a special questionnaire. All patients with AA were held general clinical laboratory, instrumental and allergy testing. Sensitization to allergens diagnosed through skin testing (prick test) with the major aeroallergens (household, pollen, epidermal, fungal) and food allergens ("Immunology", Vinnitsa). The survey was conducted in the absence of the patient's worsening primary or concomitant chronic, acute lack of intercurrent infections and severe comorbidity, which could affect the results of the study. The control group included 90 healthy individuals with no allergic history with the bases of DNA Research Institute of Genetic and immunological basis for the development of pathology

and pharmacogenetics " Ukrainian Medical Dental Academy." The study was conducted according to the provision of a written survey and determine the commission on ethics and bioethics issues of this institution. Isolation of genomic DNA was performed by phenol - chloroform extraction. The definition of polymorphism 896A / G TLR4 gene carried by the polymerase chain reaction [13]. Lymphocyte phenotype was analyzed by determining the level of expression of cell surface antigens using the monoclonal antibodies, CD4, CD25 (production of " Sorbent ", Russia), and intracellular protein Foxp3 («eBioscience», USA) by flow cytometry. At flow cytofluorometry EPIX LX - MCL (Beckman Coulter, USA) using a program System II TM software, serum total IgE, IL -4, 10 (OOO " Ukrmed - Don," Ukraine) in serum was determined by indirect IFA. Mathematical processing of the data was performed using the program «STATISTICA 6.0» (StatSoft Inc). Results. We analyzed the frequency of polymorphism Asp299Gly change of adenine to guanine at position 1187 (rs 4986790) in the TLR4 gene in patients with AA and in the group of population controls (Table 1).

Table 1
The Frequency Distribution of Genotypes and Alleles gene's TLR4

Genotypes, alleles	Control group (n=90)	Patients with atopic asthma (n=45)	p*
AA	95,6 (86)	84,4 (38)	0,04
AG	4,5 (4)	15,6 (7)	
GG	0	0	0,06
G	97,8 (176)	92,2 (83)	
A	2,2 (4)	7,8 (7)	

*p ≤ 0,05 in comparison with the control group

In DNA samples of 90 people that were part of a control group, the mutant genotype GG was not identified, the frequency of the heterozygous genotype AG was 4.5 % (4 people), the frequency of "wild" AA genotype was 95.6 % (86 people). Patients with AA had next results : GG - was not detected, AG - 15,6% (7 people), the genotype AA -84.4 % (38 people). etween the frequencies of genotypes in the control group and patients with AA noted a significant difference (p = 0.04),

it's characterizing the TLR 4 gene, as the gene - candidate for the development of AA. The patients who are carriers of the allele G (Table 2) has polisensibilisation: domestic and/or pollen allergies with dietary factors - is observed in all 7 patients (p = 0.013). 6 persons in this group (p = 0.03) has manifestations of the AA in early childhood, and 4 patients underwent standard procedures " atopic march."

Table 2
The Clinical Features of Atopic Asthma

Attribute		Patients with atopic asthma "wild" allele (A) TLR4 carriers, (n=38)	Patients with atopic asthma mutant allele (G) TLR4 carriers, (n=7)	p*
Polysensibilisation that including food allergens	yes	7	7	0,013
	no	31	0	
Comorbidities (rhinitis, conjunctivitis)	yes	6	5	0,045
	no	32	2	
"Atopic march" in the history of deases	yes	7	6	0,029
	no	31	1	
Frequent SARS	ye	17	5	0,344
	no	21	2	

The characteristic clinical feature of this TLR4 SNP was associated with allergic pathology (rhinitis and conjunctivitis) (p = 0.045). The vast majority of patients had gastrointestinal diseases and frequent manifestations of SARS. We identified a number of interesting facts that can play an important role in understanding the characteristics of the immunopathogenesis of the AA in the analysis of data on

the state of the immune system in carriers homo - and heterozygotes Toll - like receptor 4. Based on the classic principles of modern immunological science [7] you may notice signs of an imbalance in the immune system in these groups of patients with compensated over AA. This is particularly true for the high activity of CD4 - cells. A characteristic feature (Table 4)

Tabl.4
Strength of the Correlation due Immunological Parameters depending on the genotype 896A/G gene's TLR4

	The pair correlation *	Patients with atopic asthma "wild" allele (A) TLR4 carriers, (n=38)	Patients with atopic asthma mutant allele (G) TLR4 carriers, (n=7)
1	CD4 ⁺ and CD4 ⁺ /25 ⁺	0,47	--
2	CD4 ⁺ and CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺	0,54	--
3	CD4 ⁺ and Leucocytes	0,73	0,93
4	CD4 and Eosinophils	0,49	--
5	CD4 ⁺ and Lymphocytes	0,87	0,99
6	CD4 ⁺ /25 and Lymphocytes	0,54	--
7	CD4 ⁺ /25 ⁺ and Leucocytes	--	0,81
8	CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ and Leucocytes	0,46	--
9	CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ and Lymphocytes	0,41	--
10	CD4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ and IL10	0,52	--
11	Leucocytes and Eosinophils	0,59	--
12	Leucocytes and Lymphocytes	0,75	0,92
13	Eosinophils and Lymphocytes	0,60	--
14	IgE and IL4	0,63	0,96
15	IL10 and IL4	--	-0,77

*- All of the pairs are statistically significant ($p \leq 0,05$)

AA compensated flow in patients with heterozygous changes TLR4 is a decrease in the number (from 17 to 6), statistically significant relationships and a significant increase in the strength of correlation of these links, as an example - a direct correlation between the levels of

IgE and IL4, which reflects the typical for AA relationship immunoregulatory and effector pathogenesis. There was a significant change in the level of CD4 + / 25 + / Foxp3 + and IL10 in patients with polymorphism 896A / G gene TLR4 (Table 3).

Table 3
Immunological parameters Dependency Genotypes 896A/G gene TLR4

№	Index	Homozygous (AA), (n=38)	Heterozygous (AG), (n=7)
1.	CD 4 ⁺ G/l	0,67 ± 0,07	0,78 ± 0,17
2.	CD 4 ⁺ /25 ⁺ , G/l	0,16 ± 0,02	0,27 ± 0,08
3.	CD 4 ⁺ /25 ⁺ /Foxp3 ⁺ , G/l	0,07 ± 0,01 *	0,03 ± 0,01*
4.	Leucocytes, G/l	6,55 ± 0,4	8,7 ± 1,89
5.	Eosinophils, G/l	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,02
6.	Lymphocytes, G/l	1,47 ± 0,13	2,05 ± 0,45
7.	IgE, IU / ml	163,8 ± 14,4	170,8 ± 45,8
8.	IL10, pg/l	0,45 ± 0,02 *	0,35 ± 0,03*
9.	IL 4, pg/l	63,09 ± 9,28	38,6 ± 8,18

* $p \leq 0,05$ in comparison with the homozygous

Interleukin-10 is one of the two main mediators of effector T - reg cells [18, 8]. Changes in the level of IL - 10 can be regarded as a systemic immune response, both natural and induced T - lymphocytes regulators - this is confirmed by a number of authors [11]. The significant reduction in the level of CD4 + / 25 + / Foxp3 + in conjunction with its main mediator - IL10 heterozygous carriers of TLR4 gene variant may be an important factor in the pathogenesis of immunogenetic AA. T - reg cells control reactions not only adaptive, but innate immunity, including TLR [9]. It is known that due to the presence of Toll - like receptor on the surface of these regulatory cells may be activated by the same factors which activate the effector cells of innate immunity [10]. It is proved that the increased activity of T - regulatory cells after repeated stimulation of pathogens due not only to the formation of memory B cells, but also the expansion of these regulatory cells through Toll - like receptors [9]. On this basis, it is logical to assume that the genetic changes TLR4 may lead to a breach in the performance of the other component of this mechanism, in our case - the suppression of the link : T - reg - cells and IL10.

Conclusions:

1. TLR4 gene polymorphism 896 A / G statistically significant ($p = 0.04$) is found in the group of patients ABA than in healthy individuals can be considered TLR 4 gene as a candidate gene in the development of this disease.
2. In patients who carry the gene TLR4 896G allele the disease began in childhood ($p = 0.03$), the spectrum of sensitization were dietary factors ($p = 0.02$), and there were other manifestations of allergic disease ($p = 0.045$).
3. A single nucleotide polymorphism of TLR4 gene in patients with atopic asthma is characterized by over-compensated significant reduction in IL-10, the absolute number of CD4 + / 25 + / Foxp3 + - cells and absence of relationship between these lymphocytes other immunological parameters.
4. The study of genetic aspects of atopic asthma optimize diagnostic and treatment protocols of this disease and contribute to the implementation of preventive measures for the development and dissemination of allergic diseases...

Література

1. Bottcher M. TLR4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharide-induced interleukin-12(p70) responses in Swedish children / M. Bottcher // J. Allergy clin. immunol. - 2004. - P. 561-567.
2. Ferwerda B. Functional Consequences of Toll-like Receptor 4 Polymorphisms / B. Ferwerda, M. B. McCall, K. Verheijen, B. J. Kullberg // MOL MED. — 2008. — Vol. 14, № 5—6. — P. 346—352.J.
3. Garcia Rodriguez C. Toll-like receptor 4 dependent pathways as sensors of endogenous «danger» signals. New evidences and potential therapeutic targets / C. Garcia Rodriguez // Immunologia. - 2007. - Vol. 26, № 4. — P. 210—215
4. Holloway J.W. Genetics of allergic disease / J.W. Holloway, I.A. Yang, S.T. Holgate // J. Allergy. Clin. Immunol. - 2010. - № 125. - P. 81
5. Pabst S., Baumgarten G., Stremmel A. et al. Toll-like receptor (TLR) 4 polymorphisms are associated with a chronic course of sarcoidosis / Clin. Exp. Immunol. — V. 143, № 3. — P. 420-426.
6. Papadopoulos A. I., Ferwerda B., Antoniadou A. et al. Association of Toll-Like Receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile Polymorphisms with Increased Infection Risk in Patients with Advanced HIV-1 Infection / Clin. Infect. Dis. — 2010. — V. 51, № 2. — P. 242-247.
7. Peakman M.. Basic and clinical Immunology/ M. Peakman, D. Vergani. - 2 edition. —USA- 2009.- 486 p.
8. Pop S. Single cell analysis shows decreasing Foxp3 and TGFbeta coexpressing CD4+ CD25+regulatory T cells during autoimmune diabetes/ S. Pop, C. Wong, D. Culton. et al. // J Exp Med — 2005 — P 1333-1346
9. Sakaguchi S. Control of immune responses by naturally arising CD4 regulatory T cells that express toll-like receptors/ S. Sakaguchi // J. Exp. Med. — 2003. - Vol. 197. — P 397-401).
10. Taams L. S., Akbar A. N. Peripheral generation and function of CD4+CD25+ regulatory T cells // Curr. Top. Microbiol. Immunol. — 2005. — Vol.6. — P.152-162
11. Vahlemkamp T. W., Tompkins M. B., Tompkins W. A. The role of CD4+CD25+ regulatory T cells in viral infection // Vet. Immun. Immunopathol. — 2005 — Vol.108. — P. 219 - 225.).
12. Beloglazova K.V., Shlykova O.A., Izmaylova O.V., Kaydashev I.P. Polimorfizm gena Toll-like receptora 4 Asp299Gly u bol'nykh revmatoidnym artritom / Problemi ekol. ta med. — 2009. — T.13, № 5-6. — S. 15-17.
13. Izmaylova O.V., Shlikova O.A., Bobrova N.O. ta in. Rol' polimorfizmu Toll-podibnogo receptora 4 Asp299Gly u rozvitku bakterial'nykh infektsiy, scho peredayut'sya statevim shlyachom / Problemi ekol. ta med. — 2009. — T.13, № 5-6. — S. 3-6.
14. Kryuchko T.O., Kaydashev I.P., Vovk Yu.O. i dr. Genetichniy polimorfizm Toll-podibnogo receptora 4 u ditey z atopichnoyu bronchial'noyu astmoyu / Klin. imunol. Alergol. Infektol. — 2011. — № 5. — S. 52-54.
15. Lapshin V.F. Bronchial'na astma y fenotipi svistyachich chripiv u ditey / V.F Lapshin., T.R. Umanez' // Klinichna imunologiya. Alergologiya. Infektologiya. - 2010. - № 2. - S. 66-69.
16. Ostrovs'ka L.Y., Petrushanko T.O., Kaydashev I.P. Polimorfizm Asp299Gly gena Toll-podibnogo receptora 4 u genezi zmin yasen u vagitnich / Ukr. stomatol. al'manach. — 2009. — № 6 — S. 17-19.
17. Sul'skaya Yu. V. Geneticheskiy polimorfizm Toll-like receptora 4 tipa u bol'nykh sacharnym diabetom 2 tipa / Tavricheskiy mediko-biologicheskiiy vestnik. — 2009. — T. 12, № 3 (47). — S. 72-74.
18. Freydin M.B. Regulyatornye T-kletki: proischozhdienie i funkziya// Med biologiya. — 2005. — T.7, №4. — S.347 -354.
19. Freydin M. B. Genetika bronchial'noi astmi / M. B Freydin, L. M. Ogorodova, A. N. Zoy, N. G. Berdnikova. - M. : Atmosfera, 2010. - 78 s.
20. Yariilin A.A., Donezkova A.D. Estestvennye regulyatornye T-kletki i faktor rosta//Immunologiya. — 2006 - №3. — S.176 -186

Матеріал надійшов до редакції 27.09.2013 р.

© Скрипник В.М., Аветіков Д.С., Скікевич М.Г.
УДК 617.51/53-003.9-084

АНАЛІЗ ДИНАМІКИ КЛІНІЧНИХ ЗМІН СТАНУ РУБЦЕВОЗМІНЕНИХ ТКАНИН НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ПРОФІЛАКТИКИ ПАТОЛОГІЧНИХ РУБЦІВ ГОЛОВИ ТА ШИЇ*

Скрипник В.М., Аветіков Д.С., Скікевич М.Г.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Профилактика образования патологических рубцов кожи - одна из актуальных проблем пластической хирургии головы и шеи. Рубцовоизменение ткани возникает в результате оперативных вмешательств и различных повреждающих факторов (механического, термического или химического воздействия, ионизирующего излучения, глубокого деструктивного воспаления). Многие авторы отмечают понятие «склонность к образованию», но не освещают принципиального определения содержания этого определения. Нами истолковано вышеупомянутое понятие, как состояние организма, при котором возникают рубцовые изменения в ответ на минимальную травму или невольно остаются без внимания пациента. После проведения тщательного анализа фундаментальных изданий и периодических научных публикаций, нами было определено, что понятие «склонность к образованию патологических рубцов» на сегодня не обосновано.

Ключевые слова: послеоперационный рубец, патологический рубец, профилактика, дермофибразе.

Робота є фрагментом НДР кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії з пластичною та реконструктивною хірургією голови та шиї - «Оптимізація консервативного та хірургічного лікування хворих, що мають дефекти та деформації тканин щелепно-лицевої ділянки, № державної реєстрації № 0110U004629

Порушення цілісності шкіри призводить до виникнення рубців. Регуляція даного процесу залежить від багатьох факторів. Фактори обумовлені глибиною та площею пошкодження, терміном перебігу ранового процесу, причиною виникнення травматичного агенту, зниженням імунітету, ендокринопатії, анемії, порушеннями асоціативної мікрофлори, зниженням мікроциркуляції та місцевої гемодинаміки [1-3].

Багато авторів наголошують на понятті «схильність до утворення», але не висвітлюють принципового визначення змісту цього терміну [4].

Патологічні рубці були поділені на три групи: справжній келоїд, хибний келоїд і гіпертрофічний рубець. Справжній келоїд виникає без видимих причин, що дає підстави думати про схильності до розвитку його у окремих осіб. Несправжній келоїд може виникнути на будь-якій попередньо ушкодженій ділянці тіла і на місці колишніх рубців із переходом на здорові ділянки шкіри [5, 6].

Нами було обґрунтовано термін «схильність до утворення» патологічних рубців з клінічної, морфологічної та генетичної точки зору [7-12].

Матеріали та методи

Метою роботи було розробка оптимального методу профілактики післяопераційних патологічних рубців у хворих, які схильні до їх утворення.

Об'єктом дослідження: 18 пацієнтів, що знаходилися на лікуванні після планових втручань, які схильні до утворення патологічних рубців.

Для профілактики утворення патологічних рубців проводили внутрішньорубцеві ін'єкції препарату «Лі-

пін» № 5, втирання крему «Дермофібразе» 3 рази на день. Через 3 місяці дозрівання рубця проводили електрофорез із препаратом «Ліпін» №10 через день, з традиційним ультрафонофорезом гідрокортизону через день, втирання крему «Дермофібразе». Через 6 місяців проводилась повторна профілактика шляхом електрофорезу розчину «Ліпін» за наведеною вище методикою з одночасним ультрафонофорезом крему «Дермофібразе» №15 через день. Повторні профілактичні заходи проводилися з 9 місяця.

Для клінічної оцінки динаміки утворення рубців на етапах їх профілактики, а саме з 3, 6, 9, 12 місяців, нами була використана стандартизована таблиця, яка характеризувала утворення рубців за п'ятьма ознаками: ознака П1 – тип рубця; ознака П2 – консистенція рубця; ознака П3 – колір рубця; ознака П4 – чутливість рубця; ознака П5 – площа рубця.

Для визначення поліморфізму гену еластину в 20 екзоні g28197 A>G нами проводилися виділення геномної ДНК з венозної крові обстежуваних за допомогою набору «ДНК-експрес-кров».

Проведене нами морфологічне дослідження було спрямоване на виявлення гістологічних особливостей будови патологічних рубців та їх зміни в процесі профілактики.

Результати та їх обговорення

При вивченні динаміки клінічних змін встановлено, що при застосуванні профілактики, у хворих з виявленим поліморфізмом гену еластину, найбільш позитивна динаміка спостерігається у параметра П2 – консистенція рубця, особливо після 3 місяців профілактич-

* Цитування при атестації кадрів: Скрипник В.М., Аветіков Д.С., Скікевич М.Г. Аналіз динаміки клінічних змін стану рубцевозмінених тканин на різних етапах профілактики патологічних рубців голови та шиї // Проблеми екології і медицини. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 34 – 35.

них заходів. На 12 місяць ознаки нормальної консистенції рубця спостерігали у 9 (50%) пацієнтів. Найбільш повільно змінювався показник П4 – чутливість рубця з 3 по 9 місяць профілактики зі збереженням цього параметру до 12 місяця проведення профілактики. На 12 місяць ознаки напруженості рубця визначалися у 8 (45%) пацієнтів. Зміна параметру П1 – тип рубця свідчить про погіршення цього показника між 6 та 9 місяцем профілактики, але суттєвим зменшенням після 3 етапу. Через 12 місяців у 6 (34%) пацієнтів спостерігали гіпертрофічний гомогенний рубець, а у 2 (11%) пацієнтів гіпертрофічний рубець з вузликами. Ознаки утворення нормотрофічного рубця відмічені у 9 (50%) пацієнтів. Показник П5 – площа рубця, який суттєво зменшився з 3 по 6 місяць профілактики після якого параметр залишався незмінний. На 12 місяць ознака першого ступеню складала 16 (89%) пацієнтів. У 2 (11%) пацієнтів визначали середню площу. Достовірно зменшився параметр П3 – колір рубця. Найбільш суттєва динаміка спостерігалася з 3 по 6 місяць профілактики з подальшим повільним його зменшенням після 2 та 3 етапу профілактичних заходів. На 12 місяць ознаки здорової шкіри визначалася у 15 (84%) пацієнтів.

Аналіз алельних частот показав, що алель G достовірно частіше зустрічалася в групі хворих, що схильні до утворення патологічних рубців. Нами виявлено достовірну залежність між наявністю поліморфного алеля G та підвищеним ризиком утворення патологічних рубців.

Імуногістохімічне вивчення гістологічних зрізів рубців у хворих з виявленим поліморфізмом гену еластину із застосуванням маркерів встановило, що в епітелії виявляються клітини, які на своїй поверхні експресують до макрера CD 3 та CD 68 і відповідно є інтраепітеліальними Т-лімфоцитами і макрофагами та до макрера Ki 67, що підтвердило значну проліферативну активність фібробластів

Висновок: таким чином, аналіз динаміки клінічних змін параметрів, що характеризують утворення рубцевозмінених тканин показав, що всі вони досягають зниження після запропонованого нами методу профілактики. У пацієнтів схильних до утворення патологічних руб-

ців зафіксовано статистично значимий показник розвитку нормотрофічних рубців (у 11(53%) хворих).

Література

1. Фисталь Н.Н. Рубцовые деформации и контрактуры / Фисталь Э.Я., Самойленко Г.Е. // Пластическая хирургия. – Донецк: «Вебер», 2008. – С.136-162.
2. Мишалов В.Г. Проблемы диагностики и лечения патологических рубцов / В.Г. Мишалов, В.В.Храпач, И.А.Назаренко [и др.] //Хирургия Украины. –2008. - №. 4 (28). – С.109-114.
3. Les cicatrices hypertrophiques et cheloides dans les brulures: traitement chirurgical / E.Caleft, A. Bocchi, G. Montacchini, [et al] // Burns, 1993, Vol.6, N.4. – P.255-263.
4. Болховитинова Л.А. Келоидные рубцы / Л.А. Болховитинова, М.Н. Павлова // М., Медицина, 1977. – 134с.
5. Keloids: a 6 year review of the clinical relevance of steroid therapy. / A.Edwin, S. Mobin, V.Partha[et al] // Abstracts of 12th Congress of the European Burns Association: Budapest. – 2007. – P.29.
6. Rayner K. The use of pressure therapy to treat hypertrophic scarring / K. Rayner // J. Wound Care.– 2000. – Vol. 9. – P.151–153.
7. Скрипник В.М. Поліморфізм G28197A>G гену еластину визначає схильність до утворення патологічних рубців / В.М. Скрипник, І.П. Кайдашев, О.А. Шликова, Д.С. Аветіков // Проблеми екології і медицини. – 2012. – Т. 16.– № 5-6. – С. 61-64.
8. Скрипник В.М. Морфофункціональне обґрунтування профілактики післяопераційних патологічних рубців обличчя та шиї / В.М. Скрипник, Д.С. Аветіков, Г.А. Єрошенко // Світ медицини та біології. – 2012. - № 4. – С. 96-98.
9. Скрипник В.М. Морфофункціональне обґрунтування профілактики післяопераційних келоїдних рубців обличчя та шиї / В.М.Скрипник, Д.С.Аветіков, Г.А. Єрошенко // Світ медицини та біології. – 2013. – № 1. – С. 85-87.
10. Аветіков Д.С. Особливості будови та біомеханічних властивостей сполучнотканинних структур голови / Д.С. Аветіков // Вісник морфології. – 2010. - № 16(3). – С. 721-726.
11. Аветіков Д. С. Оптимізація методики підйому і мобілізації шкірно-жирових та шкірно-фасціальних жирових клаптів на голові / Д. С. Аветіков // Український стоматологічний альманах. – 2010. – № 5. – С. 18-20.
12. Аветіков Д. С. Морфофункціональні особливості будови м'яких тканин різних ділянок голови людини : автореф. дис. на отрим. вчен. ступення докт. мед. наук : спец. 14.03.01 "нормальна анатомія" / Д. С. Аветіков. – Х., 2011. – 37 с.

English version: CLINICAL ANALYSIS OF THE DYNAMICS OF SCAR TISSUE CHANGES AT DIFFERENT STAGES OF PREVENTING PATHOLOGICAL SCARS OF HEAD AND NECK*

Skrypnyk V.M., Avetikov D.S., Skikevych M.G.

"Ukrainian Medical Stomatological Academy" (Poltava)

Prevention of pathological formation of scars on skin is one of topical problems of plastic head and neck surgery. Cicatricial changes result from surgeries and various damaging factors (mechanical, thermal or chemical influence, ionizing radiation, a deep destructive inflammation). Many authors note the concept "tendency to formation", but don't show basic definition of the content of this term. We interpreted the above-mentioned concept as a condition of organism at which there are cicatricial changes in response to the minimal trauma or involuntarily without attention of the patient. After carrying out the careful analysis of fundamental editions and periodic scientific publications, we defined that the concept "tendency to formation of pathological scars" is not proved for today.

Key words: postoperative scar, abnormal scar, prevention, dermofibrase.

The work is a fragment of R & D Department of Operative Dentistry and Maxillofacial Surgery with plastic and reconstructive surgery of the head and neck - "Optimization of conservative and surgical treatment of patients with defects and deformations of the tissues of the maxillofacial region, № State registration №0110U004629.

Destruction of skin leads to scarring. Regulation of the process depends on many factors. Factors due to the depth and area of damage, a period of wound healing process, the cause of the traumatic agent, decreased immunity, endocrinopathy, anemia, impaired associative microflora, reducing microcirculation and local hemodynamics [1-3].

Many authors focused on the notion of "a tendency to form", but did not cover the fundamental determination of this term [4].

Abnormal scars were divided into three groups: a real keloid, false keloid and hypertrophic scar. This keloid occurs for no apparent reason, which gives reason to think about the predisposition to develop it for individuals. Unreal keloid can occur at any pre-damaged area of the body and on the site of the former scar with the transition to healthy skin [5, 6].

We have justified the term "tendency to pathological scarring" from clinical, morphological and genetic point of view [7-12].

The aim of the work was to develop an optimal method of preventing postoperative pathological scarring in patients who are prone to their formation.

The object of the study: 18 patients who were treated after the planned interventions and who are prone to abnormal scarring.

To prevent the formation of pathological scars the in scar injection with «Lipin» № 5, were reformed cream «Dermofibrase» rubbed 3 times a day. After 3 months of maturation of the scar electrophoresis preparation «Lipin» № 10 per day with a traditional phonophoresis of hydrocortisone in a day, massaging cream «Dermofibrase» were introduced. After 6 months, a refresher prevention by electrophoresis solution «Lipin» in the above procedure while Ultraphonophoresis cream «Dermofibrase» № 15 per day. Repeated preventive measures were carried out from 9 months.

For the clinical assessment of the dynamics of scarring at the stages of prevention, namely 3, 6, 9, 12

months, we used table that characterized the formation of scars on five criteria: a sign of P1 - the type of scar, a sign of P2 - the consistency of the scar, a sign of P3 - the color of the scar, a sign of P4 - the sensitivity of the scar, a sign of the P5 - the area of the scar.

To determine the elastin gene polymorphism in exon 20 g28197 A> G we carried out the selection of genomic DNA from venous blood of the subjects with a set of "DNA -express- blood."

The conducted morphological study was aimed at identifying the histological features of the structure of pathological scarring and changes in the process of prevention.

Results and Discussion

In the study of the dynamics of clinical changes it was found that the application of prevention in patients with viyalenim elastin gene polymorphism, the most positive changes in observed parameter P2 - the consistency of the scar, especially after three months of preventive measures. At the 12 month a sign of normal consistency of the scar was observed in 9 (50%) patients. The slowest rate unchanged P4 the sensitivity of the scar from 3 to 9 month prophylaxis with preservation of this parameter to 12 months of prophylaxis. 12 month scar strength characteristics defined in 8 (45%) patients. Changing the parameter P1 - type of scar indicates deterioration of this indicator between 6 and 9 months of prophylaxis, but a significant decrease after 3 stages. After 12 months in 6 (34%) patients had a homogeneous hypertrophic scar and 2 (11%) patients with hypertrophic scar nodules. Signs of normal atrophic scar formation were observed in 9 (50%) patients. Indicator P5 - the area of the scar, which significantly decreased from 3 to 6 month prophylaxis after which the parameter remained unchanged. At month 12 was a sign of the first stage 16 (89%) patients. In 2 (11%) of the patients was determined the mean area. Significantly decreased P3 parameter - the color of the scar. The most significant trend was observed from 3

* To cite this English version: Skrypnyk V.M., Avetikov D.S., Skikevych M.G.. Clinical analysis of the dynamics of changes scar tissue changes at different stages of preventing pathological scars of head and neck // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 36 -37.

to 6 month prophylaxis followed by a slow decrease after his 2 and 3 stages of preventive measures. At month 12 healthy skin features defined in 15 (84%) patients.

Analysis of allele frequencies showed that the G allele was significantly more common in patients who are prone to abnormal scarring. We found a significant relationship between the presence of the polymorphic allele G and an increased risk of abnormal scarring.

Immunohistochemical study of histological sections of scars from patients diagnosed with elastin gene polymorphism markers using established that epithelial cells are found, which on its surface to marker 3 expressing CD and CD 68 respectively, and have intraepithelial T-lymphocytes and macrophages and marker Key 67 confirmed a significant proliferative activity of fibroblasts.

Conclusion: thus, the analysis of the dynamics of changes in clinical parameters characterizing the formation scar modified tissues showed that all of them reach the descent after our method of prevention. Patients prone to abnormal scarring demonstrated a statistically significant indicator of normal atrophic scarring (in 11 (53%) patients).

References

1. Fistal' N.N. Rubzovye deformazii i kontraktury / Fistal' E.Ya., Samoylenko G.E. // *Plasticheskaya chirurgiya*. – Donezk: «Veber», 2008. – S.136-162.
2. Mishalov V.G. Problemy diagnostiki i lecheniya patologicheskikh rubzov / V.G. Mishalov, V.V.Chrapach, I.A.Nazarenko [i dr.] // *Chirurgiya Ukrainy*. –2008. - №. 4 (28). – S.109-114.
3. Les cicatrices hypertrophiques et cheloides dans les brulures: traitement chirurgical / E.Calefft, A. Bocchi, G. Montacchini, [et al] // *Burns*, 1993, Vol.6, N.4. – P.255-263.
4. Bolchovitinova L.A. Keloidnye rubzy / L.A. Bolchovitinova, M.N. Pavlova // *M., Medizina*, 1977. – 134s.
5. Keloids: a 6 year review of the clinical relevance of steroid therapy. / A.Edwin, S. Mobin, V.Partha[et al] // *Abstracts of 12th Congress of the European Burns Association: Budapest*. – 2007. – P.29.
6. Rayner K. The use of pressure therapy to treat hypertrophic scarring / K. Rayner // *J. Wound Care*.– 2000. – Vol. 9. – P.151–153.
7. Skripnik V.M. Polimorfizm G28197A>G genu elastinu viznachae schil'nist' do utvorenniya patologichnich rubziv / V.M. Skripnik, I.P. Kaydashev, O.A. Shlikova, D.S. Avetkov // *Problemi ekologii i medizini*. – 2012. – T. 16. – № 5-6. – S. 61-64.
8. Skripnik V.M. Morfofunkcional'ne obr'untuvannya profilaktiki pislyaoperazynich patologichnich rubziv oblichchya ta shii / V.M. Skripnik, D.S. Avetkov, G.A. Eroshenko // *Svit medizini ta biologii*. – 2012. – № 4. – S. 96-98.
9. Skripnik V.M. Morfofunkcional'ne obr'untuvannya profilaktiki pislyaoperazynich keloïdnych rubziv oblichchya ta shii / V.M.Skripnik, D.S.Avetkov, G.A. Eroshenko // *Svit medizini ta biologii*. – 2013. – № 1. – S. 85-87.
10. Avetkov D.S. Osoblivosti budovi ta biomechanichnich vlastivostey spoluchnotkaninnich struktur golovi / D.S. Avetkov // *Visnik morfologii*. – 2010. - № 16(3). – S. 721-726.
11. Avetkov D. S. Optimizaziya metodiki pidyomu i mobilizazii shkirno-zhirovich ta shkirno-faszial'no-zhirovich klaptiv na golovi / D. S. Avetkov // *Ukrains'kiy stomatologichniy al'manach*. – 2010. – № 5. – S. 18-20.
12. Avetkov D. S. Morfofunkcional'ni osoblivosti budo-vi m'yakich tkanin riznich dilyanok golovi lyudini : avto-ref. dis. na otrim. vchen. stupennya dokt. med. nauk : spez. 14.03.01 "normal'na anatomiya" / D. S. Avetkov. – Ch., 2011. – 37 s.

Матеріал надійшов до редакції 27.09.2013

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

© Козуля С.В.

УДК 613.14/15:62:579

О НЕОБХОДИМОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ СПЛИТ-СИСТЕМ*

Козуля С.В.

Государственное Учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

Мета роботи полягала в порівнянні мікрофлори, виділеної з харкотиння хворих, з штамами, виявленими в біоплівці спліт-систем, встановлених за місцем їх проживання. Ідентичність штамів підтверджувалася спектром антибіотикорезистентності. Для Staphylococcus aureus додатково проводилося фаготипування. В ході роботи з харкотиння пацієнтів було виділено 103 штами мікрофлори, а з біоплівки спліт-систем - 27 ідентичних їм штамів (26,2%). Таким чином, результати дослідження доводять зв'язок між мікрофлорою, що викликала захворювання, з тією, що колонізувала систему кондиціонування. Отже, спліт-системи в приміщеннях, де знаходяться хворі, слід розглядати як резервуар мікрофлори, що представляє небезпеку для інших жителів або відвідувачів цього приміщення. І, після одужання пацієнта з захворюванням органів дихання бактеріальної етіології, потрібне проведення заключної дезінфекції спліт-системи, встановленої в приміщенні, де той знаходився під час хвороби. Проведені дослідження також показали, що вимогливіша до температурного режиму культивування мікрофлора: Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Haemophilus spp. і Streptococcus agalactiae колонізувати спліт-системи не здатна. Її представники в біоплівці спліт-систем не виявлялися. Staphylococcus aureus, Candida albicans, Klebsiella pneumoniae і Pseudomonas aeruginosa, навпаки, активно заселяли системи кондиціонування повітря - отримані дані демонструють 82% ідентичність штамів, виділених з мокроти пацієнта та з біоплівки спліт-систем. Тому, для запобігання заселенню мікрофлорою спліт-систем, також потрібна розробка ефективної схеми їх профілактичної дезінфекції.

Ключові слова: гігієна, мікрофлора повітря приміщень, системи кондиціонування повітря.

Из-за ряда конструктивных особенностей сплит-системы легко колонизируются условно-патогенной микрофлорой [3]. В частности, при понижении температуры воздуха на теплообменнике происходит образование конденсата, а попадающая во внутренний блок пыль содержит как сами микроорганизмы, так и пригодные для их размножения субстраты. Заселившая сплит-систему микрофлора становится, в свою очередь, причиной загрязнения воздуха помещений и фактором риска заболеваний у людей, в них находящихся. Следовательно, проведение регулярной профилактической дезинфекции систем кондиционирования необходимо.

Однако человек, в свою очередь, также может являться источником той микрофлоры, что в дальнейшем заселит систему кондиционирования. В первую очередь это касается систем кондиционирования ЛПУ и домашних сплит-систем при амбулаторном лечении пациентов с заболеваниями, передающимися воздушно-капельным путем. В этом случае, после выздоровления пациентов, следует рекомендовать про-

ведение заключительной дезинфекции системы кондиционирования.

Цель данной работы состояла в подтверждении приведенного выше утверждения путем поиска идентичных штаммов, выделенных как из мокроты больных хроническим бронхитом и пневмонией (бактериальной этиологии), так и найденных в биопленке сплит-систем по месту их проживания.

Материалы и методы исследования

В течение жаркого периода (май-сентябрь) 2011-2012 годов у больных хроническим бронхитом (в стадии обострения) и пневмонией, обратившихся в Центральную районную поликлинику г. Джанкоя и имеющих по месту жительства сплит-систему, проводились исследования мокроты с целью выделения возбудителя и определения его чувствительности к антибактериальным препаратам [4, 7]. Эта группа заболеваний органов дыхания была выбрана для мониторинга по той причине, что для неё основным механизмом распространения возбудителя является аэро-

* Цитування при атестації кадрів: Козуля С.В. О необходимости проведения заключительной дезинфекции сплит-систем // Проблемы экологии и медицины. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 38–40.

генный. Острый бронхит не учитывался по той причине, что он связан, в основном, с вирусной, а не бактериальной инфекцией [5]. Исследования мокроты проводились в бактериологическом отделе клинико-диагностической лаборатории ГУ «Джанкойская центральная районная больница», а также в бактериологическом отделе ГУ «Джанкойская линейная СЭС на Приднестровской железной дороге» (на данный момент переименовано в лабораторию Джанкойского линейного отдела Днепропетровского отдельного подразделения ГУ «Лабораторный центр на железнодорожном транспорте Госсанслужбы Украины»), г. Джанкой.

Далее, с разрешения пациентов, из их домашней сплит-системы отбирались пробы биопленки. Снятие биопленки с поддона для сбора конденсата выполнялось стерильным ватным тампоном на проволоке, вмонтированной в пробку пробирки, содержащей 1 мл мясо-пептонного бульона. Доставка в лабораторию производилась в срок до двух часов с использованием сумки-холодильника.

С помощью дозатора производился посев 0,1 мл суспензии биопленки на чашки Петри с плотными питательными средами (желточно-солевой, кровяной и «шоколадный» агар, среды Эндо и Сабуро). Далее проводилась инкубация, выделение чистых культур и идентификация [1, 11, 12, 13, 14].

Идентичность штаммов микроорганизмов, выделенных из мокроты пациентов и из биопленки внутреннего блока сплит-системы, подтверждалось их одинаковой чувствительностью к антибиотикам. То есть, маркером служил спектр антибиотикорезистентности, поскольку штаммы, происходящие от эпиде-

миологически связанных случаев, обладают сходными спектрами резистентности [10]. Для подтверждения идентичности штаммов *Staphylococcus aureus* дополнительно проводилось фаготипирование с использованием типовых сухих диагностических стафилококковых бактериофагов производства «Медгамал» (филиал ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, РФ) [9].

Мы заявляем, что исследования на животных не проводились, а права пациентов во время исследования были учтены в соответствии с требованиями Хельсинкской конвенции.

Результаты и их обсуждение

За жаркие периоды 2011 и 2012 годов, когда население Крыма пользовалось системами кондиционирования воздуха, в Центральную районную поликлинику г. Джанкоя обратилось 426 человек с диагнозами «хронический бронхит» (J41, J44 по МКБ-10) и «пневмония» (J13, J15, J17.2). Из них 102 человека имело по месту жительства установленную сплит-систему и согласилось на отбор проб биопленки из системы сбора конденсата.

Из мокроты этих пациентов было выделено 103 штамма микрофлоры - у одного больного в мокроте одновременно были обнаружены *Streptococcus pneumoniae* и *Candida albicans*. Так как информация об искомом штамме значительно облегчала работу по его поиску в плане выбора сред и методик, из биопленки сплит-систем, расположенных по месту жительства пациентов, было выделено 27 штаммов, идентичных тем, что были обнаружены в мокроте (таблица 1).

Таблица 1

Сравнение микрофлоры, выделенной из мокроты пациентов и биопленки их домашних сплит-систем

Микрофлора	Мокрота пациентов			Биопленка сплит-систем		
	Всего	2011 год	2012 год	Всего	2011 год	2012 год
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	4	4	6	3	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	47	20	27	0	0	0
<i>Candida albicans</i>	10	5	5	8	4	4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	1	2	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	6	4	8	5	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	2	3	5	2	3
<i>Moraxella catarrhalis</i>	12	5	7	0	0	0
<i>Haemophilus spp.</i>	8	3	5	0	0	0
всего	103	46	57	27	14	13

Уже само по себе обнаружение 26,2% штаммов, имеющих идентичный спектр резистентности к антибиотикам (а, в случае *Staphylococcus aureus* – еще и фаготип) подтверждает, что источником заселения микрофлорой сплит-систем являются люди, проживающие в тех помещениях, где они установлены. Учитывая уже опубликованные исследования, которые доказывают факты сохранения (размножения) микрофлоры в системах кондиционирования [3], а также её роль в загрязнении воздуха помещения [15], сплит-системы в помещениях, где находятся больные, следует рассматривать как резервуар микрофлоры, представляющий опасность для остальных жителей (посетителей) данного помещения.

При анализе полученных данных также установлено, что в изучаемый период возбудителем заболеваний органов дыхания чаще всего выступал *Streptococcus pneumoniae* – выделено 47 штаммов (45,6% от общего количества выделенных культур).

Далее по выявляемости шли *Moraxella catarrhalis* (12; 11,7%), *Staphylococcus aureus* (10; 9,7%), *Candida albicans* (10; 9,7%), *Haemophilus spp.* (8, 7,8%), *Klebsiella pneumoniae* (8; 7,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (5; 4,8%) и *Streptococcus agalactiae* (3; 2,9%). Однако из биопленок сплит-систем *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus spp.* и *Streptococcus agalactiae* выделить не удалось. Объяснением этому служит то, что для представителей рода *Streptococcaceae* оптимальная температура роста составляет 35–37°C а предельно возможные величины - от 25 до 45°C [8]. Как показал проведенный нами опрос владельцев сплит-систем, большинство жителей Крыма предпочитают поддерживать температуру воздуха помещения в пределах 19-20°C, что для роста *Streptococcaceae* не оптимально. *Moraxella catarrhalis* (старое название – *Branchamella catarrhalis*) также является весьма прихотливым микроорганизмом, чувствительным не

только к температурному диапазону культивации, но и к кислотности среды [6], а представители *Haemophilus spp.* колонизировать сплит-системы не способны по той причине, что им требуются факторы роста, содержащиеся в крови [2].

Поэтому, если бы в проведенных исследованиях мы ограничились такими неприхотливыми, устойчивыми к пониженной температуре микроорганизмами, как *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumonia* и *Pseudomonas aeruginosa*, то результат показал бы 82% идентичность штаммов, выделенных из мокроты пациента и из биопленки сплит-систем.

Выводы

1. Источником микрофлоры, заселяющей системы кондиционирования воздуха могут являться люди, что подтверждается выделением из биопленки сплит-систем 27 штаммов *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumonia* и *Pseudomonas aeruginosa*, идентичных тем, что были обнаружены в мокроте больных бронхитом и пневмонией, проживающих в помещениях с установленными сплит-системами.

2. Сплит-системы в помещениях, где находятся больные, следует рассматривать как резервуар микрофлоры, представляющий опасность для остальных жителей или посетителей данного помещения.

3. Проведенные исследования показали, что такая требовательная к температурному режиму культивации микрофлора, как *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus spp.* и *Streptococcus agalactiae* колонизировать сплит-системы не способна.

4. После выздоровления пациента с заболеванием органов дыхания бактериальной этиологии необходимо проведение заключительной дезинфекции сплит-системы, установленной в помещении, где тот находился во время болезни.

5. Необходима разработка эффективной схемы профилактической дезинфекции сплит-систем.

Литература

1. Biochimicheskaya aktivnost' rodov *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*. – Ofiz. izd. – Char'kov. : Char'kovskaya medizinskaya akademiya poslediplomnogo obrazovaniya, 2002. – 5 s. – (Normativnyy dokument Char'kovskoy medizinskoj akademii poslediplomnogo obrazovaniya. Metodicheskie rekomendazii).
2. Vydelenie, identifikaziya i opredelenie chuvstvitel'nosti k antibiotikam *Haemophilus influenzae*. – Ofiz. izd. – Smolensk. : Nauchno-issledovatel'skiy institut antimikrobnoy chimioterapii Smolenskoj gosudarstvennoj medizinskoj akademii, 2000. – 20 s. – (Normativnyy dokument Nauchno-issledovatel'skogo instituta antimikrobnoy chimi-

3. oterapii Smolenskoj gosudarstvennoj medizinskoj akademii Char'kovskoy medizinskoj akademii poslediplomnogo obrazovaniya. Metodicheskie rekomendazii).
3. Porivnyal'na charakteristika bakterij, yaki vidileni iz kondensatu i bioplivki split-sistem kondizioneriv / S.V. Kozulya, V.Ya. Akimenko, V.G. Kuznezov ta in. // Dovkillya ta zdorov'ya. - 2012. - №2. - T.61. - S.43-46.
4. Instrukzii po opredeleniyu chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibiotikam. – Ofiz. vid. – K. : M-vo ochoroni zdorov'ya Ukraïni, 2002. – 61 s. – (Normativ-niy dokument Ministerstva ochoroni zdorov'ya Ukraïni, Instrukziya).
5. Katilov A.V. Bronchity u detey: sovremennyye predstavleniya / A.V. Katilov, D.V. Dmitriev // Dityachiy likar. – 2012. —№3,4. – S. 18-25.
6. Kolenchukova O.A. Mikrobiozenoz slizistoy obolochki nosa i rinosinusity / O.A. Kolenchukova, S.V. Smirno-va, A.A. Savchenko. — Krasnoyarsk: KrasGMU, 2011. — 180 s.
7. Kolichestvennoe opredelenie bakterij v razlichnom klinicheskom materiale. – Ofiz. vid. – K. : M-vo ochoroni zdorov'ya Ukraïni, 1996. – 52 s. – (Normativniy dokument Ministerstva ochoroni zdorov'ya Ukraïni, Metodichni rekomendazii).
8. Malyy V.P. Streptokokkovyye infekzii v praktike klinizista / V.P. Malyy // Klinicheskaya immunologiya. Allergologiya. Infektologiya. – 2012. - №4. – S. 25-33.
9. Metizillinrezistivnye *Staphylococcus aureus* - vobzuditeli vnutribol'nichnykh infekzij: identifikaziya i genotipirovanie. – Ofiz. izd. – M. - 2006. – 26 s. – (Normativnyy dokument Federal'noy sluzhby po nad-zoru v sfere zaschity prav potrebiteley i blagopolu-chiya cheloveka. Metodicheskie rekomendazii).
10. Metodicheskie ukazaniya po mikrobiologicheskoy diagnostike zabolevaniy, vyzvaemykh enterobakteriyami. – Ofiz. izd. – M. - 1984. – 134 s. – (Normativnyy dokument MZ SSSR. Metodicheskie rekomendazii).
11. Metody vyyavleniya i opredeleniya kolichestva *Staphylococcus aureus* : GOST 104444.2-94. – [Deystvitelen ot 1998-01-01] – Minsk : Mezhhgosudarstvennyy sovet po standartizazii, metrologii i sertifikazii, 1997. – 14 s. – (mezhhgosudarstvennyy standart SNG).
12. Metody kul'tivirovaniya mikroorganizmov : GOST 26670-91. – [Deystvitelen ot 1993-01-01] – M. : Komi-tet standartizazii i metrologii SSSR, 1991. – 13 s. – (gosudarstvennyy standart SSSR).
13. Mikrobiologicheskaya diagnostika zabolevaniy, vyzvaemykh psevdomonadami i drugimi nefermentiruyuschimi gramotrizatel'nymi bakteriyami. – Ofiz. izd. – K. : Kievskiy gosudarstvennyy institut usovershenstvovaniya vrachey MZ SSSR, 1988. – 24 s. – (Normativnyy dokument MZ USSR. Metodicheskie rekomendazii).
14. Opredelenie gramotrizatel'nykh potentsial'no pato-gennykh bakterij - vobzuditeley vnutribol'nichnykh infekzij. – Ofiz. izd. – Moskva : Moskovskiy Obla-stnoy Nauchno-Issledovatel'skiy Klinicheskij Insti-tut im. M.F. Vladimirs-kogo. - 1987. –35 s. – (Normativnyy dokument MONIKI im. M.F. Vladimirs-kogo. Metodicheskie rekomendazii).
15. Eksperimental'noe obosnovanie vozmozhnosti pere-choda mikroflory, koloniziruyushey split-sistemu, v vozdukh pomescheniya / S.V. Kozulya, V.Ya.Akimenko, V.G. Kuznezov i dr. // Gigiena naselenich misz'. – Kïiv. - 2012. – Vip. 60. – S. 64-69.

English version: ABOUT NECESSITY OF SPLIT-SYSTEMS' FINAL DISINFECTION*

Kozulya S. V.

State Institution «Crimea State Medical University named after S. I. Georgievsky», Department of General hygiene with ecology.

The purpose of work consisted in comparison of microflora, isolated from the sputum of patients, with isolates, revealed in the biofilm of split-systems, installed at the place of their residence. Identity of isolates was confirmed by the spectrum of resistance to antibiotics. For Staphylococcus aureus fagotyping was additionally applied. From the sputum of patients 103 isolates of microflora during the work were selected. From the biofilm of split-systems 27 identical isolates were selected (26,2%). Consequently, results of research proved the relation between a microflora, caused a diseases, and microflora from the air-conditioning systems. Therefore, split-systems in patient's apartments is a reservoir of microflora, dangerous for other habitants or visitors of this apartment. And the final disinfection of split-system, installed in an apartment, is needed after recovery of patient with the airborne diseases bacterial etiology. The researches also showed that microflora, more demanding to the cultivating temperature condition such as Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Haemophilus spp. and Streptococcus agalactiae is not able to colonize split-systems. In biofilm of split-systems this microflora was absent. Staphylococcus aureus, Candida albicans, Klebsiella pneumonia and Pseudomonas aeruginosa, vice versa, actively colonized the systems of climatization. Researches demonstrated the 82% identity of isolates, selected from the sputum of patient and from the biofilm of split-systems. Consequently, prophylactic disinfection is needed for prevention of split-systems colonization by the microflora.

Keywords: hygiene, microflora of indoor air, split-system.

Background

Due to some design features split-systems are colonized easily by pathogenic microflora [3]. In particular, at low temperatures there is a formation condensate in a heat exchanger and an entered dust in the internal block includes microorganisms, and also some suitable substrates for their multiplication.

Split-system's colonizing microflora becomes, in its turn, a cause of indoor air pollution and the risk factor of human's diseases. Therefore, carrying out of regular preventive disinfection of split-systems required. However the man, in turn, may also be a source of the microorganisms, which further colonized split-systems. In particular this applies to air conditioning systems of health care facilities and split-systems of private house there are patients with diseases transmitted by airborne droplets. In this case, after the recovery of patients should be advised of the final disinfection of air conditioning systems. The aim of this study was a confirmation of the above statement: the search of identical strains, which isolated from the sputum of patients with chronic bronchitis and pneumonia (bacterial etiology), and found in a biofilm of split systems.

Methods: During the frost-free season (May-September) of 2011-2012, sputum of patients with Chronic bronchitis (in the acute phase) and with Pneumonia from Central District Hospital (Dzhankoy City), who had split-system at home, was laboratory studied for isolation the pathogens and determination of its sensitivity to antibiotics [4, 7]. This group of respiratory system diseases has been selected for experiment because the basic mechanism of pathogen spread is aerogenic. Acute bronchitis is not considered, because it is associated mainly with the virus etiology rather than bacterial etiology [5]. Sputum were laboratory studied in the department of clinical and bacteriological diagnostic laboratory PI "Dzhankoy Central District Hospital", bacteriological department of PI " Dzhankoy linear SES

on the Pridneprovsky railway" (now renamed: the laboratory of Djankoy line department of Dnipropetrovsky separate unit PI "Laboratory Centre the railway transport of State SES Ukraine"), Dzhankoy City. Further, with the permission of patients from their home split-system, biofilm samples were taken. Taking of biofilm from the condensate tray was performed with a sterile cotton swab on a wire, which was mounted in the plug tube with 1 ml of meat-peptone broth. Delivery was made in the laboratory during two hours in cooler. With help of the dispenser, 0.1 ml of a suspension of biofilm was seeded on a Petri dish with dense nutrient mediums (yolk and salt, blood and "chocolate" agar medium, Saburo and Endo medium). Then, the incubation, isolation and identification of pure cultures were carried out [1, 11, 12, 13, 14]. The identity of the isolated strains from the sputum of patients and from the biofilm of the internal unit of a split-system, was confirmed their equal sensitivity to antibiotics. The spectrum of antibiotic resistance was a marker, because the strains, which derived from epidemiologically linked cases, have similar spectra of antibiotic resistance [10]. In order to confirm identity of Staphylococcus aureus strains in addition, a phage-typing was conducted using standard diagnostic dry staphylococcal bacteriophage manufactory by "Medgamal" (branch of State NIEM named after N. F. Gamaleya RAMS, Russia) [9]. We declare that animal studies have not been conducted, and the rights of patients in the study were taken into account in accordance with the requirements of the Helsinki Convention.

Results and discussion

During the frost-free season of 2011-2012, when the population of Crimea used the air conditioning systems, there were 426 patients with «Chronic bronchitis» (J41, J44 in ICD-10) and «Pneumonia» (J13, J15, J17.2) in the Central district hospital, Dzhankoy City. Of these patients, 102 people in the community had established a

* To cite this English version: Kozulya S. V. About necessity of split-systems' final disinfection // Problemy ekologiji ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 41 - 43.

split-system and agreed to the sampling of the biofilm system for collecting condensate. From sputum of these patients, 103 strains were isolated; *Streptococcus pneumoniae* and *Candida albicans* were simultaneously detected in one patient's sputum. The information about the sought-for strain significantly facilitates the work of its isolation, because used the same media and methods for biofilm of split-systems located in the community of patients, 27 strains were isolated that were identical to strains, which found in the patients' sputum (Table 1). It stands to reason, the detection of 26.2% strains that are identical to the spectrum of antibiotic resistance (and, in

the case of *Staphylococcus aureus*, they are identical also by phage-typing) confirms that the source of settlement microflora split systems are the people living in those areas where split systems are installed. In consideration of the already published studies that prove the facts of preservation (multiplication) of microflora in air conditioning systems [3], as well as its role in the pollution of indoor air [15], split-systems in the premises where is the sick people should be considered as a reservoir of microorganisms and presenting the risk for other residents (visitors) of these premises.

Table 1
Pathogens from patient's sputum and from the Biofilms of the home split-systems

Pathogens	Sputum of the patients			Biofilm from the home split-systems		
	Total number	2011 year	2012 year	Total number	2011 year	2012 year
<i>Klebsiella pneumonia</i>	8	4	4	6	3	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	47	20	27	0	0	0
<i>Candida albicans</i>	10	5	5	8	4	4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	1	2	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	6	4	8	5	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	2	3	5	2	3
<i>Moraxella catarrhalis</i>	12	5	7	0	0	0
<i>Haemophilus spp.</i>	8	3	5	0	0	0
Total number	103	46	57	27	14	13

In the analysis the received data also established that during the study period respiratory pathogen most often was *Streptococcus pneumoniae*: 47 strains were isolated (45.6% of isolates). Further, on the frequency of detection the such strains were as: *Moraxella catarrhalis* (12; 11,7%), *Staphylococcus aureus* (10; 9,7%), *Candida albicans* (10; 9,7%), *Haemophilus spp.* (8, 7,8%), *Klebsiella pneumonia* (8; 7,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (5, 4,8%) and *Streptococcus agalactiae* (3, 2,9%). However, in biofilms of split systems, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus spp.* *Streptococcus agalactiae* are not isolated. We can explain this by the fact that pathogens of this *Streptococcaceae* genus have optimum growth temperature 35-37°C and the maximum possible range is from 25 to 45 ° C [8]. As interview of split systems holders shown that the majority of Crimean residents prefer to keep the temperature of the premises air in range within the 19-20°C, so this temperature is not optimal for growth of *Streptococcaceae*. *Moraxella catarrhalis* (old name - *Branchamella catarrhalis*) is also very fastidious bacteria and it is sensitive not only to the temperature range of cultivation, but the acidity of the medium [6], and the for representatives of the *Haemophilus spp.* colonization split system is not capable for the reason that required factors is necessary for growth which contained in the blood. [2]

Therefore, if in our studies we restricted by such unpretentious, low-temperature-resistant pathogens as *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa*, the result would show 82% identity of strains isolated from the sputum of the patients and the biofilms.

Conclusion

1. The source of the microflora which colonized the air conditioning system may be people, as evidenced by the isolation from biofilm of splits-systems 27 strains of *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa*, which are

identical to pathogens in the sputum of patients with chronic bronchitis and pneumonia, living in premises with split-systems.

2. Split-systems in premises where are the sick people should be considered as a reservoir of microorganisms, which is a danger to other residents or visitors of these premises.

3. Studies have shown that such a demanding temperature conditions to cultivate microorganisms as *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus spp.* and *Streptococcus agalactiae* are not capable to colonize the split-system.

4. After recovery of the patient with the respiratory disease of bacterial etiology, the final disinfection of split-system which installed in the premises where the patient was at the time of illness is necessary to conduct.

5. Effective scheme of preventive disinfection of split-systems needs to be developed.

Литература

1. Biochimicheskaya aktivnost' rodov *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*. – Ofiz. izd. – Char'kov. : Char'kovskaya medizinskaya akademiya poslediplomnogo obrazovaniya, 2002. – 5 s. – (Normativnyy dokument Char'kovskoy medizinskoy akademii poslediplomnogo obrazovaniya. Metodicheskie rekomendazii).
2. Vydelenie, identifikaziya i opredelenie chuvstvitel'nosti k antibiotikam *Haemophilus influenzae*. – Ofiz. izd. – Smolensk. : Nauchno-issledovatel'skiy institut antimikrobnoy chimioterapii Smolenskoy gosudarstvennoy medizinskoy akademii, 2000. – 20 s. – (Normativnyy dokument Nauchno-issledovatel'skogo instituta antimikrobnoy chimioterapii Smolenskoy gosudarstvennoy medizinskoy akademii Char'kovskoy medizinskoy akademii poslediplomnogo obrazovaniya. Metodicheskie rekomendazii).
3. Porivnyal'na charakteristika bakteriy, yaki vidileni iz kondensatu i bioplivki split-sistem kondizioneriv / S.V. Kozulya, V.Ya. Akimenko, V.G. Kuznezov ta in. // Dovkillya ta zdorov'ya. - 2012. - №2. - T.61. - S.43-46.
4. Instrukzii po opredeleniyu chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibiotikam. – Ofiz. vid. – K. : M-vo ochoroni zdorov'ya Ukraini, 2002. – 61 s. – (Normativniy

- dokument Ministerstva ochoroni zdorov'ya Ukraïni, Instrukziya).
5. Katilov A.V. Bronchity u detey: sovremennye predstavleniya / A.V. Katilov, D.V. Dmitriev // Dityachiy likar. – 2012. — №3,4. – S. 18-25.
 6. Kolenchukova O.A. Mikrobiozenoz slizistoy obolochki nosa i rinosinuity / O.A. Kolenchukova, S.V. Smirnova, A.A. Savchenko. — Krasnoyarsk: KrasGMU, 2011. — 180 s.
 7. Kolichestvennoe opredelenie bakteriy v razlichnom klinicheskom materiale. — Ofiz. vid. — K. : M-vo ochoroni zdorov'ya Ukraïni, 1996. — 52 s. — (Normativnyy dokument Ministerstva ochoroni zdorov'ya Ukraïni, Metodichni rekomendazii).
 8. Malyy V.P. Streptokokkovye infekzii v praktike klinizista / V.P. Malyy // Klinicheskaya immunologiya. Allergologiya. Infektologiya. — 2012. - №4. — S. 25-33.
 9. Metizillinrezistivnye Staphylococcus aureus - vzbuditeli vnutribol'nichnykh infekziy: identifikaziya i genotipirovanie. — Ofiz. izd. — M. - 2006. — 26 s. — (Normativnyy dokument Federal'noy sluzhby po nadzoru v sfere zaschity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka. Metodicheskie rekomendazii).
 10. Metodicheskie ukazaniya po mikrobiologicheskoy diagnostike zabolevaniy, vyzyvaemykh enterobakteriyami. — Ofiz. izd. — M. - 1984. — 134 s. — (Normativnyy dokument MZ SSSR. Metodicheskie rekomendazii).
 11. Metody vyyavleniya i opredeleniya kolichestva Staphylococcus aureus : GOST 104444.2-94. — [Deystvitelen ot 1998-01-01] — Minsk : Mezhhgosudarstvennyy sovet po standartizazii, metrologii i sertifikazii, 1997. — 14 s. — (mezhhgosudarstvennyy standart SNG).
 12. Metody kul'tivirovaniya mikroorganizmov : GOST 26670-91. — [Deystvitelen ot 1993-01-01] — M. : Komitet standartizazii i metrologii SSSR, 1991. — 13 s. — (gosudarstvennyy standart SSSR).
 13. Mikrobiologicheskaya diagnostika zabolevaniy, vyzyvaemykh psevdomonadami i drugimi nefermentiruyuschimi gramotrizatel'nymi bakteriyami. — Ofiz. izd. — K. : Kievskiy gosudarstvennyy institut usovershenstvovaniya vrachey MZ SSSR, 1988. — 24 s. — (Normativnyy dokument MZ USSR. Metodicheskie rekomendazii).
 14. Opredelenie gramotrizatel'nykh potentsial'no patogennykh bakteriy - vzbuditeley vnutribol'nichnykh infekziy. — Ofiz. izd. — Moskva : Moskovskiy Oblastnoy Nauchno-Issledovatel'skiy Klinicheskoy Institut im. M.F. Vladimirovskogo. - 1987. — 35 s. — (Normativnyy dokument MONIKI im. M.F. Vladimirovskogo. Metodicheskie rekomendazii).
 15. Eksperimental'noe obosnovanie vozmozhnosti perechoda mikroflory, koloniziruyushey split-sistemu, v vozdukh pomescheniya / S.V. Kozulya, V.Ya. Akimenko, V.G. Kuznezov i dr. // Gigiena naselenich misz'. — Kiïv. - 2012. — Vip. 60. — S. 64-69.

Матеріал надійшов до редакції 3.09.2013

© Руденко С. С., Андрюк В.Г.

УДК [(574.64:556.114)+546.62](28)

АЛЮМІНІЙ У ВОДАХ М. ЧЕРНІВЦІ*

Руденко С. С., Андрюк В.Г.

Чернівецький національний університет, м. Чернівці

Проведен комплексный мониторинг содержания Аллюминия в различных типах вод г. Черновцы. Установлен такой снижающийся рейтинг по среднему содержанию этого элемента в исследуемых водах: речная (0,927 мг/л) > колодезная (0,281 мг / л) > водопроводная (0,216 мг / л). Выяснено, что самый большой вклад в загрязнение речной воды г. Черновцы Аллюминием осуществляют аварийные сбросы ГКП «Черновцыводоканал». Самое высокое среднее содержание Аллюминия в колодезной воде зафиксировано в Садгорском физико-географическом районе, где отмечается повышенная естественная кислотность почв. Качество водопроводной воды в городе по сравнению с речной и колодезной, соответствует предельно-допустимой концентрации, или незначительно превышает ее.

Ключевые слова: содержание Аллюминия, речная вода, колодезная вода, водопроводная вода, превышение предельно-допустимой концентрации.

Робота виконувалась в рамках держбюджетної теми кафедри екології та біомоніторингу ЧНУ «Моделювання антропогенного впливу на спряженість біогеохімічних кругообігів та прогнозування наслідків їх екосистемної розбалансованості» № державної реєстрації: 0113U003248.

Вступ

На тлі досить активного вивчення вітчизняними екологами таких поллютантів як нітрати, важкі метали та радіонукліди, оцінка Аллюмінію поступово випала з контексту їхніх досліджень. Напевне, основної причиною цього було те, що закис азоту, необхідна для визначення цього елементу атомно-абсорбційним методом, постановою КМУ від 25.03.2009 р. №333 була віднесена до речовин-прекурсорів [6]. Між тим, Аллюміній – це елемент підвищений рівень якого у воді може мати як антропогенне, так і природне походження [8, 9]. Так, враховуючи високий рівень рухомих форм Аллюмінію в ґрунтах Карпат та Прикарпаття, І.І. Назаренко [5] та С.С. Руденко [7] запропонували навіть виділити тут аллюмінієву біогеохімічну провінцію. Актуальність контролю рівня Аллюмінію у довкіллі зумовлена тим, що цей елемент належить до 4-го класу токсичності. Не випадково, директивою Європейського Союзу 98/98/ЄС Аллюміній було віднесено до обов'язкових для контролю параметрів питної води [3]. З підвищенням вмістом Аллюмінію в організмі людини пов'язують розвиток таких захворювань як хвороба Альцгеймера, аллюмінієва діалізна енцефалопатія, недіалізна енцефалопатія маленький дітей, перитонеальний аллюміноз, ятрогенна аллюмінієва остеодистрофія, легеневий аллюміноз, астмоїдний аллюміноз та ін. [7].

Мета дослідження - визначити вміст Аллюмінію у річковій, криничній та водопровідній воді м. Чернівці та з'ясувати вплив на нього природних і антропогенних чинників.

Матеріали і методи дослідження

Визначення Аллюмінію в поверхневих, підземних водах та водопровідній воді м. Чернівці здійснювали

фотоколориметрично з використанням аллюмінону [10]. Для підсилення ефективності цієї методики було запропоновано ряд модифікацій. Зокрема, для стабілізації значень оптичної густини досліджуваних зразків, рекомендовано застосовувати 20%-ний розчин аскорбінової кислоти, а не 0,2%-ний, як зазначено у методиці. Для зв'язування хлору у водопровідній воді рекомендовано додавати еквівалентну кількість (0,005 моль/дм³) розчину тіосульфату натрію.

Результати досліджень та їх обговорення

Відомо, що якість поверхневих вод у місті зазнає трансформації під впливом стічних вод підприємств. Тому дослідження вмісту Аллюмінію у річковій воді м. Чернівці здійснювали з урахуванням антропогенного навантаження. Для цього станції моніторингу обирали вище (контроль) та нижче (дослід) розміщення підприємств, які в останні 10 років не припиняли свої виробничі діяльності.

Результати дослідження вмісту Аллюмінію у річковій воді м. Чернівці представлені в таблиці 1.

В усіх точках моніторингу вміст Аллюмінію у воді перевищує гранично допустиму концентрацію (ГДК) (0,5 мг/л), визначену нормативом ДержСанПіНу №383 для вод комунально-побутового призначення [1].

У 4-х із 9-ти досліджених точок моніторингу вміст Аллюмінію у дослідних пробах достовірно перевищує вміст у контрольних. При цьому дві з цих точок приурочені до аварійного скиду ДКП «Чернівціводоканал», який як відомо, здійснює очистку питної води у місті сульфатом Аллюмінію. У попередніх наших публікаціях було засвідчено небезпечність вод саме цих ділянок для тестових організмів [12].

* Цитування при атестації кадрів: Руденко С. С., Андрюк В.Г. Аллюміній У водах м. Чернівці // Проблеми екології і медицини. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 44 –46.

Таблиця 1
Вміст Алюмінію (мг/л) у воді малих річок м. Чернівці, відібраний вище (контроль) і нижче (дослід) розміщення промислових об'єктів (n=4)

№ п/п	Станції моніторингу	Контроль	Дослід
1.	р. Мольниця – автозаправний комплекс (вул. Винниченка)	0,575±0,045	0,605±0,047
2.	р. Мольниця – БАТ «Цегельний завод № 3» (вул. Кармелюка)	0,875±0,064	1,085±0,076
3.	р. Мольниця – ДКП «Чернівціводоканал» (аварійний скид) (вул. Руська)	0,605±0,048	1,860±0,152*
4.	р. Мольниця – депо (вул. Білоруська)	0,590±0,039	0,620±0,041
5.	р. Коровія – Придністрянська станція садівництва (вул. Яблунівська)	0,930±0,081	1,860±0,153*
6.	р. Коровія – автозаправний комплекс (вул. Червоноармійська)	0,690±0,052	0,910±0,079
7.	р. Клокучка – ДКП «Чернівціводоканал» (аварійний скид) (вул. Гастелло)	0,605±0,049	1,395±0,091*
8.	р. Шубранець – МТК «Калинівський ринок» (вул. Калинівська)	0,590±0,041	0,725±0,048
9.	р. Прут – с. Біла (вул. Московської олімпіади)	0,525±0,032	1,550±0,138*

Примітка: * - наявність достовірної різниці в дослідному варіанті відносно контрольного при $p \leq 0,05$.

Слід зазначити, що на виході з м. Чернівці річка Прут насичується Алюмінієм втричі порівняно з його концентрацією на вході. Якщо на вході в місто р. Прут містить концентрацію Алюмінію, що лише на 5% перевищує ГДК, то на виході – на 67,7%.

Таблиця 2 відображає середній вміст Алюмінію у воді р. Прут та його допливів у межах м. Чернівці та

рівень перевищення ним ГДК. Одержані результати засвідчують перевищення ГДК Алюмінію у всіх річках м. Чернівці. При цьому рівень перевищення коливається в межах від 1,37 до 2,15. Найбільший середній вміст Алюмінію виявлено у воді р. Коровія, найменший – у воді р. Шубранець.

Таблиця 2
Середній вміст Алюмінію у воді малих річок м. Чернівці та рівень перевищення ГДК (0,5 мг/л) (n=4)

№ п/п	Назва річки	Вміст Алюмінію, мг/л	Рівень перевищення ГДК _{Ал}
1.	р. Мольниця	0,851 ± 0,063	1,68 ГДК
2.	р. Коровія	1,098 ± 0,074	2,15 ГДК
3.	р. Клокучка	1,000 ± 0,071	2 ГДК
4.	р. Шубранець	0,658 ± 0,045	1,37 ГДК
5.	р. Прут	1,037 ± 0,069	2,07 ГДК

Вміст Алюмінію у криничній воді м. Чернівці визначали з прив'язкою до фізико-географічних районів. Найвищий середній вміст Алюмінію зафіксовано в Садгірському фізико-географічному районі, де рівень перевищення ГДК питної води (0,2 мг/л) становить 1,91 (табл. 3). У переважній більшості інших фізико-географічних районів міста середній вміст Алюмінію в криничній воді також в тій чи іншій мірі перевищує ГДК, лише в Калічанському (Східному) районі, концен-

трація Алюмінію в криничній воді не виходить за межі ГДК. Виявлені нами відмінності у вмісті Алюмінію в криничній воді по районах міста можна пояснити специфікою ґрунтів. Згідно карти ґрунтів м. Чернівці, розробленої В.М. Гуцуляком [4], переважна більшість ґрунтів Садгірського району (світло-сірі та дерново-підзолисті) характеризується слабо кислою реакцією, що і зумовлює підвищений рівень рухомих форм Алюмінію в криничній воді.

Таблиця 3
Середній вміст Алюмінію у криничній воді фізико-географічних районів м. Чернівці та рівень перевищення ГДК (0,2 мг/л) (n=4)

№ п/п	Назва фізико-географічного району	Вміст Алюмінію, мг/л	Рівень перевищення ГДК
1	Садгірський	0,382 ± 0,023	1,91 ГДК
2	Прищепинський (Роша)	0,230 ± 0,013	1,15 ГДК
3	Центральноміський	0,291 ± 0,019	1,46 ГДК
4	Калічанський (Східний)	0,175 ± 0,013	0,88 ГДК
5	Рогатинський (Південний)	0,324 ± 0,021	1,62 ГДК

За Ю.Ф.Шевчуком стан водопровідних труб може здійснювати вплив на якість водопровідної води. Зокрема, цим автором доведено, що даний фактор впливає на концентрацію Заліза у питній воді м. Чернівці [11]. Тому було цікаво порівняти вміст Алюмінію у водопровідній воді різних фізико-географічних районів м. Чернівці, які відрізняються за терміном функціонування водопровідної мережі. Достовірних відмінностей між фізико-географічними районами м. Чернівці у вмісті Алюмінію у водопровідній воді виявлено не було. При цьому перевищення ГДК хоча і мало місце у

всіх районах, але було невисоким і залежно від району перебувало на рівні від 1,03 до 1,11 (табл. 4).

Отже, такий чинник як стан водопровідних труб не здійснює суттєвого впливу на концентрацію Алюмінію у водопровідній воді м. Чернівці. А обробка води сульфатом Алюмінію, як коагулянт, не спричиняє значного перевищення ГДК. Очевидно, на очисній станції ДКП «Чернівціводоканал» коагулянт осідає, з'єднуючись з іншими сполуками. Натомість, як було показано вище, аварійні скиди водоканалу у річкову воду призводять до підвищення у ній Алюмінію.

Таблиця 4

Середній вміст Алюмінію у водопровідній воді фізико-географічних районів м. Чернівці та рівень перевищення ГДК (0,2 мг/л) (n=4)

№ п/п	Назва фізико-географічного району	Вміст Алюмінію, мг/л	Рівень перевищення ГДК
1	Садгірський	0,214 ± 0,012	1,07 ГДК
2	Прищепенський (Роша)	0,221 ± 0,014	1,10 ГДК
3	Центральноміський	0,216 ± 0,013	1,08 ГДК
4	Калічанський (Східний)	0,207 ± 0,011	1,03 ГДК
5	Рогатинський (Південний)	0,222 ± 0,017	1,11 ГДК

Висновки

1. Встановлено такий спадний рейтинг за середнім вмістом Алюмінію у досліджуваних водах м. Чернівці: річкова вода (0,927 мг/л) > кринична вода (0,281 мг/л) > водопровідна вода (0,216 мг/л). Найбільший розмах значень вмісту Алюмінію (0,394 мг/л) зареєстровано для річкової води, дещо менший (0,303 мг/л) – для криничної та найменший (0,067 мг/л) – для водопровідної.

2. Показано, що на виході з м. Чернівці р. Прут насичується Алюмінієм втричі порівняно з його концентрацією на вході. У межах міста виявлено перевищення ГДК Алюмінію у воді усіх допливів р. Прут. При цьому рівень перевищення ГДК коливається в межах від 1,37 до 2,15. Найбільший середній вміст Алюмінію виявлено у воді р. Коровія (1,077 мг/л), найменший – у воді р. Шубранець (0,683 мг/л). Встановлено, що найбільший внесок у забруднення води річок м. Чернівці Алюмінієм здійснюють аварійні скиди ДКП «Чернівці-водоканал».

3. З'ясовано, що в усіх фізико-географічних районах м. Чернівці (за винятком Калічанського) середній вміст Алюмінію в криничній воді перевищує ГДК. При цьому доведена відмінність у концентрації Алюмінію в криничній воді між різними районами. Найвищий середній вміст Алюмінію зафіксовано в Садгірському фізико-географічному районі, де рівень перевищення ГДК Алюмінію у криничній воді становить 1,91. Обґрунтовано причетність природної кислотності ґрунтів до зафіксованої відмінності.

4. Показано, що стан водопровідних труб та очистка води сульфатом Алюмінію не здійснюють суттєвого впливу на концентрацію Алюмінію у водопровідній воді м. Чернівці. Якість водопровідної води у місті, порівняно з річковою та криничною, відповідає ГДК, або незначно перевищує її.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому автори планують дослідити взаємозв'язок між рівнем Алюмінію та Фосфору в річковій і криничній воді міста, оскільки є відомості про антагонізм між цими елементами.

Література

1. Вода питна. Гігієнічні вимоги до якості води централізованого господарсько-питного водопостачання: Сан Пін 383 [Електронний ресурс]. – [Чинна від 1996-12-23]. Режим доступу: <http://document.ua/voda-pitna.-gigienichni-vimogi-do-jakosti-vodi-centra-lizovan-nor3053.html>.
2. Гігієнічні вимоги до питної води, призначеної для споживання людиною: ДСанПін 2.2.4-171-10 [Електронний ресурс]. – [Чинна від 2010-05-12]. Режим доступу: zakon.rada.gov.ua/go/z0452-10.
3. Директива Європейського Парламенту і Ради «Про якість води, призначеної для споживання людиною» [Електронний ресурс]. – 98/83/ЄС. – [Чинна від 1998-11-03]. – Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws>.
4. Ландшафти м. Чернівці : Монографія / За редакцією В.М. Гуцуляка. – Чернівці : Рута, 2006. – 168 с.
5. Назаренко І.І. Структурно-функціональні гідрофізичні характеристики буровато-підзолистих ґрунтів Передкарпаття / І.І. Назаренко, М.А. Бербець, І.С. Смага // Вісник аграрної науки. – 2005. – № 1. – С. 11-15.
6. Постанова КМУ «Деякі питання державного регулювання цін на лікарські засоби і виробі медичного призначення» [Електронний ресурс]. – №333. – Чинна від 2009.03.25. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/333-2009-%D0%BF>.
7. Руденко С. С. Алюміній в природних біотопах: біохімічна адаптація тварин: Монографія / С. С. Руденко. – Чернівці : Рута, 2001. – 300 с.
8. Руденко С. С. Аналіз просторових змін Алюмінію у ґрунтах природних областей Буковини / С. С. Руденко, Ю. М. Дмитрук // Наук. вісник Чернів. ун-ту. – Вип. 38. Біологія. – Чернівці : ЧДУ, 1998. – С. 44-63.
9. Руденко С. С. Порівняльний аналіз забруднення агроландшафтів Чернівецької області важкими металами та Алюмінієм / С. С. Руденко, С. С. Костишин, Т. В. Морозова // Екологія та ноосферологія. – 2003. – Т. 14, № 3-4. – С. 73–78.
10. Руденко С. С. Загальна екологія: практичний курс / С. С. Руденко, С. С. Костишин, Т. В. Морозова. – Чернівці : РУТА, 2008. – Ч. 1. – 320 с.
11. Шевчук Ю.Ф. Оцінка трансформації якості питної води в системі джерело-споживач (на прикладі міста Чернівці): автореф. дис. на здобуття наукового ступеня к. геогр. наук : спец. 25 00 23 Географічні науки / Ю.Ф.Шевчук. – Чернівці, 2011. – 20 с.
12. Rudenko S. S., Grichuk S. B. Assessment of the Influence of Sewage on the State of Small Rivers of the Town of Chernivtsi by the Method of Bioassay //Hydrobiological Journal. – 2009. – Vol.45, Iss. 2. – P. 69-75.

English version: ALUMINUM IN CHERNIVTSI WATERS*

Rudenko S.S., Andriuk V.G.

Chernivtsi National University, Chernivtsi

Objective of the research is to quantify the content of Aluminum in river, spring and tap water in Chernivtsi and to determine the influence of environmental and anthropogenic factors on it. Quantifying Aluminum in river, spring and tap waters in Chernivtsi was conducted through photocolorimetric analyses using aurintricarboxylic acid. Several modifications were introduced to increase the effectiveness of these methods. In particular, 20% solution of ascorbic acid is recommended for usage to stabilize the optical density value of examined samples (instead of 0,2% solution). It is advisable to add equivalent quantity (0,005 mole/decimetre³) of the sodium thiosulfate solution to fix chlorine in tap water. It has been already determined, that quality of surface waters is being transformed by the influence of industrial sewage. Therefore, the monitoring of Aluminum contents in river waters of Chernivtsi was conducted taking into account anthropogenic stress. In order to conduct this monitoring, test points were chosen above (control) and below (research) industrial facilities, which have not stopped their production activities in the last decade. The content of Aluminum in river waters among all test points was higher than maximum allowable concentration (MAC, 0,5 mg/l) set by the State sanitary rules and norms Standard #383 for communal-general purposes waters. It was determined that the State Utility Company Chernivtsi –Vodokanal's emergency discharges are the greatest source of river waters Aluminum pollution. It should be mentioned, that at the exit from Chernivtsi the river Prut contains thrice as much Aluminum as it contains at the entrance. The concentration of Aluminum at the entrance to Chernivtsi is 5% higher than MAC, and at the exit it exceeds MAC by 67,7%. The highest average content of Aluminum in spring water was found in Sadhora physiographic region, which has high natural acidity of the soils. In comparison to river and spring waters, the quality of tap water in the city matches MAC or exceeds it by minimal value. We have created a descending rating according to the average content of this element in examined waters: river water (0,927 mg/l) > spring water (0,281 mg/l) > tap water (0,216 mg/l).

Key words: Aluminum content, river water, spring water, tap water, MAC excess.

While such pollutants as nitrates, heavy metals and radionuclides are actively studied by Ukrainian ecologists, the Aluminum estimation has not been included into their researches. The main reason for this must be the fact that nitrous oxide, needed to estimate this element using atomic absorption method, was labeled as a precursor substance by Ukrainian Cabinet of Ministers (Government) enactment #333 from 25.03.2009 [6].

Meanwhile Aluminum is an element increased level of which in water may have both anthropogenic and natural origin [8, 9]. Thus, taking into consideration the high level of Aluminum's moving types found in soils of Carpathians and Prykarpattia, I.I. Nazarenko [5] and S.S. Rudenko [7] offered to insulate aluminum biogeochemical province here. The Aluminum level control topicality is determined by the toxicity of Aluminum (element belongs to the 4th toxicity class). For a reason European Union Directive 98/98/EU labels Aluminum a mandatory control parameter for drinking water [3]. Development of such deceases as Alzheimer's disease, aluminum dialysis encephalopathy, nondialysis encephalopathy of young children, peritoneal aluminosis, iatrogenic aluminum osteodystrophia, pulmonary aluminosis, asthma-like aluminosis, etc. is directly connected to the heightened level of Aluminum in human body [7].

The study was conducted at the ecology and biomonitoring department of Chernivtsi National University within the state funded topic "Modeling of the anthropogenic impact on the conjunction of biogeochemical cycles and forecasting implications of its ecosystemic disbalance" # of state registration: 0113U003248.

To quantify the content of Aluminum in river, spring and tap water in Chernivtsi and to determine the influence of environmental and anthropogenic factors on it.

Materials and methods of the research

Quantifying Aluminum in river, spring and tap waters in Chernivtsi was conducted through photocolorimetric analyses using aurintricarboxylic acid [10]. Several modifications were introduced to increase the effectiveness of these methods. In particular, 20% solution of ascorbic acid is recommended for usage to stabilize the optical density value of examined samples (instead of 0,2% solution). It is advisable to add equivalent quantity (0,005 mole/decimetre³) of the sodium thiosulfate solution to fix chlorine in tap water.

Results of the research and their discussion

It has been already determined, that quality of surface waters is being transformed by the influence of industrial sewage. Therefore, the monitoring of Aluminum contents in river waters of Chernivtsi was conducted taking into account anthropogenic stress. In order to conduct this monitoring test points were chosen above (control) and below (research) industrial facilities, which have not stopped their production activities in the last decade.

The results of the monitoring of Aluminum contents in river waters of Chernivtsi are shown in Table 1.

The content of Aluminum in water taken from all test points exceeds maximum allowable concentration (MAC, 0,5 mg/l) set by the State sanitary rules and norms Standard #383 for communal-general purposes waters [1].

The contents of Aluminum in research samples is reliably higher than its content in control samples in 4 out of

* To cite this English version: Rudenko S.S., Andriuk V.G.. Aluminum in Chernivtsi waters / / Problemy ekologii ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 47 -49.

ten 9 studied samples taken from test points. In addition to this two test points are directly connected to emergency discharge of a State Utility Company «Chernivtsi – Vodokanal», which performs drinking water treating with

aluminum sulfate in Chernivtsi. Life hazard for test organisms, which exists in these river sections, has been proven in our previous publications [12].

Table 1.
Aluminum contents (mg/l) in waters of small rivers of Chernivtsi extracted from the test points located above (control) and below (research) industrial facilities (p=4)

№	Test points	Control	Research
1.	river Molnytsia – gas station (Vynnychenko str.)	0,575±0,045	0,605±0,047
2.	river Molnytsia – open-end company «Tsegelnyy zavod (Brickworks) № 3» (Karmeliuk str.)	0,875±0,064	1,085±0,076
3.	river Molnytsia – State Utility Company «Chernivtsi – Vodokanal» (emergency discharge) (Ruska str.)	0,605±0,048	1,860±0,152*
4.	river Molnytsia – depot (Biloruska str.)	0,590±0,039	0,620±0,041
5.	river Koroviia – Prydnistrianska gardening station (Yablunivska str.)	0,930±0,081	1,860±0,153*
6.	river Koroviia – gas station (Chervonoarmiiska str.)	0,690±0,052	0,910±0,079
7.	river Klokuchka – State Utility Company «Chernivtsi – Vodokanal» (emergency discharge) (Gastello str.)	0,605±0,049	1,395±0,091*
8.	river Shubranets – city commercial complex «Kalynivskiy market» (Kalynivska str.)	0,590±0,041	0,725±0,048
9.	river Prut – village Bila (Moscow Olympics str.)	0,525±0,032	1,550±0,138*

Footnote: * - existence of reliable difference between research index and control index when $p \leq 0,05$.

It should be mentioned, that at the exit from Chernivtsi the river Prut contains trice as much Aluminum as it contains at the entrance. The concentration of Aluminum at the entrance to Chernivtsi is 5% higher than MAC, and at the exit it exceeds MAC by 67,7%.

Table 2 shows average contents of Aluminum in waters of the river Prut and its tributaries within Chernivtsi

and the MAC exceedence levels. Obtained results show that Aluminum content exceeds MAC in all Chernivtsi rivers. Hereby, it exceeds MAC by the range from 1.37 to 2.15. The highest average content of Aluminum was found in the waters of the river Korovia, the lowest – in the waters of the river Shubranets.

Table 2
Average content of Aluminum in waters of small rivers in Chernivtsi and MAC exceedence levels (0,5 mg/l) (n=4).

№	Name of the river	Content of Aluminum, mg/l	MAC exceedence level
1.	river Molnytsia	0,851 ± 0,063	1,68 MAC
2.	river Korovia	1,098 ± 0,074	2,15 MAC
3.	river Klokuchka	1,000 ± 0,071	2 MAC
4.	river Shubranets	0,658 ± 0,045	1,37 MAC
5.	river Prut	1,037 ± 0,069	2,07 MAC

The content of Aluminum in Chernivtsi spring waters was quantified within different physiographic regions. The highest average content of Aluminum was found in Sadhora physiographic region, where it exceeds MAC for drinking water (0,2 mg/l) and reaches the level of 1,91 (table 3). The average content of Aluminum in spring waters exceeds MAC by some level in the majority of physiographic regions. The concentration of Aluminum in spring waters was not

higher than MAC only in Kalichanka (East) region. Different content of Aluminum found in spring waters of different regions can be explained through differences in soil composition. According to the map of soils created by V.M. Gutsuliak [4], the majority of soils in Sadhora region (light-grey and sod-podzol) can be characterized by faintly acid reaction. This explains heightened quantity of Aluminum's moving types in spring waters.

Table 3
Average content of Aluminum in spring waters extracted from different physiographic regions of Chernivtsi and MAC exceedence levels (0,2 mg/l) (n=4).

№	Name of a physiographic region	Content of Aluminum, mg/l.	MAC exceedence level
1	Sadhora	0,382 ± 0,023	1,91 MAC
2	Prycecyyno (Rosha)	0,230 ± 0,013	1,15 MAC
3	City centre	0,291 ± 0,019	1,46 MAC
4	Kalichanka (East)	0,175 ± 0,013	0,88 MAC
5	Rohatyn (South)	0,324 ± 0,021	1,62 MAC

According to Y.F. Shevchuk the condition of water pipes can affect the quality of tap water. In particular, this author proved that this factor affects the concentration of Iron in drinking water in Chernivtsi [11]. That is why it was interesting to compare the contents of Aluminum in tap water taken from physiographic regions of Chernivtsi, which differ by the operating time of water supply systems. There were no reliable differences between tap water taken from physiographic regions of Chernivtsi. The results exceeded MAC in all regions, but they exceed it insignificantly reaching levels from 1,03 to 1,11 (depending on the region) (table 4).

So, the condition of water pipes does not affect substantially the concentration of Aluminum in tap water in Chernivtsi. And water treating with aluminum sulfate, as a coagulant, does not cause substantial MAC exceedence.

Evidently the coagulant accumulates and aggregates with other compounds at the water treatment plant of State Utility Company «Chernivtsi – Vodokanal». On contrary, as it was already noted, emergency discharges of «Chernivtsi – Vodokanal» to the river waters cause the elevated concentration of Aluminum.

Table 4
Average content of Aluminum in tap water extracted from different physiographic regions in Chernivtsi and MAC exceedence levels (0,2 mg/l) (n=4).

№ n/n	Name of a physiographic region	Content of Aluminum, mg/l.	MAC exceedence level
1	Sadhora	0,214 ± 0,012	1,07 MAC
2	Prycecyo (Rosha)	0,221 ± 0,014	1,10 MAC
3	City centre	0,216 ± 0,013	1,08 MAC
4	Kalichanka (East)	0,207 ± 0,011	1,03 MAC
5	Rohatyn (South)	0,222 ± 0,017	1,11 MAC

Conclusions

1. We have created a descending rating according to the average content of this Aluminum in examined waters: river water (0,927 mg/l) > spring water (0,281 mg/l) > tap water (0,216 mg/l). The biggest difference of Aluminum contents between samples (0,394 mg/l) was found in samples taken from river water, it was smaller (0,303 mg/l) in spring water samples and it was the smallest (0,067 mg/l) in tap water samples.

2. It was mentioned, that at the exit from Chernivtsi the river Prut contains trice as much Aluminum as it contains at the entrance. It was found that MAC of Aluminum is exceeded in all river Prut's tributaries within Chernivtsi. Hereby, it exceeds MAC by the range from 1.37 points to 2.15 points. The highest average content of Aluminum was found in the waters of river Korovia (1,077 mg/l), the lowest – in the waters of river Shubranets (0,683 mg/l). It was determined that the State Communal Facility "Chernivtsi –Vodokanal's" emergency discharges are the greatest source of river waters Aluminum pollution.

3. It was determined, that the average content of Aluminum in spring waters exceeds MAC by some level in all of the physiographic regions of Chernivtsi (except for Kalichanka region). The difference in concentration of Aluminum in spring water taken from different regions was also proven. The highest average content of Aluminum was found in Sadhora physiographic region, where it exceeds MAC of Aluminum by 1,91 in spring water. Soil acidity was proven to be connected with the found difference.

4. The study shows that condition of water pipes and water treating by aluminum sulfate does not substantially affect the concentration of Aluminum in tap water in Chernivtsi. In comparison to river and spring waters, the quality of tap water in the city matches MAC or exceeds it by minimal value.

References

1. Voda pitna. Gigienichni vimogi do yakosti vodi zentralizovanogo gospodars'ko-pitnogo vodopostachannya: San Pin 383 [Elektronniy resurs]. – [Chinna vid 1996-12-23]. Rezhim dostupu:

- http://document.ua/voda-pitna.-gigienichni-vimogi-do-jakosti-vodi-centra-lizovan-nor3053.html.
2. Gigienichni vimogi do pitnoi vodi, pryznachenoї dlya spozhivannya lyudynoyu: DSanPIN 2.2.4-171-10 [Elektronniy resurs]. – [Chinna vid 2010-05-12]. Rezhim dostupu: zakon.rada.gov.ua/go/z0452-10.
3. Direktiva Evropeys'kogo Parlamentu i Radi «Pro yakist' vodi, pryznachenoї dlya spozhivannya lyudynoyu» [Elektronniy resurs]. – 98/83/ES. – [Chinna vid 1998-11-03]. – Rezhim dostupu: http://zakon2.rada.gov.ua/laws.
4. Landshafti m. Chernivzi : Monografiya / Za redakcieyu V.M. Guzulyaka. – Chernivzi : Ruta, 2006. – 168 s.
5. Nazarenko I.I. Strukturno-funkcional'ni gidrofizichni charakteristiki buruvato-pidzolistich r'untiv Peredkarpattya / I.I. Nazarenko, M.A. Berbez', I.S. Smaga // Visnik agrarnoi nauki. – 2005. – № 1. – S. 11-15.
6. Postanova KMU «Deyaki pitannya derzhavnogo reguluyannya zin na likars'ki zasobi i virobi medichnogo pryznachennya» [Elektronniy resurs]. – №333. – Chinna vid 2009.03.25. – Rezhim dostupu: http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/333-2009-%D0%BF.
7. Rudenko S. S. Alyuminiy v prirodniy biotopach: biochimichna adaptaziya tvarin: Monografiya / S. S. Rudenko. – Chernivzi : Ruta, 2001. – 300 s.
8. Rudenko S. S. Analiz prostorovich zmin Alyuminiyu u r'untach prirodniy oblastey Bukovini / S. S. Rudenko, Yu. M. Dmitruk // Nauk. visnik Cherniv. un-tu. – Vip. 38. Biologiya. – Chernivzi : ChDU, 1998. – S. 44-63.
9. Rudenko S. S. Porivnyal'niy analiz zabrudnennya agrolandshaftiv Chernivez'koї oblasti vazhkimi metalami ta Alyuminiem / S. S. Rudenko, S. S. Kostishin, T. V. Morozova // Ekologiya ta noosferologiya. – 2003. – T. 14, № 3-4. – S. 73–78.
10. Rudenko S. S. Zagal'na ekologiya: praktichniy kurs / S. S. Rudenko, S. S. Kostishin, T. V. Morozova. – Chernivzi : RUTA, 2008. – Ch. 1. – 320 s.
11. Shevchuk Yu.F. Ozinka transformazii yakosti pitnoi vodi v sistemi dzhirelo-spozhivach (na prikladi mista Chernivzi): avtoref. dis. na zdobuttya naukovogo stupenya k. geogr. nauk : spez. 25 00 23 Geografichni nauki / Yu.F. Shevchuk. – Chernivzi, 2011. – 20 s.
12. Rudenko S. S., Grichuk S. B. Assessment of the Influence of Sewage on the State of Small Rivers of the Town of Chernivtsi by the Method of Bioassay //Hydrobiological Journal. – 2009. – Vol.45, Iss. 2. – P. 69-75.

Матеріал надійшов до редакції 3.10.2013 р.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Муковоз О.Є.

УДК: 616.716.4-089.843-092.9-085.849

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ЕФЕКТИВНОЇ ДОЗИ ОПРОМІНЕННЯ ХВОРИМ НА НОВОУТВОРЕННЯ ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ РЕТЕНЦІЙНИХ ПУНКТІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ) *

Муковоз О.Є.

ВДНЗУ Українська медична стоматологічна академія, Полтава, Україна

Для замещения дефектов нижней челюсти используются аваскулярные аутоотрансплантаты, формализированные или лиофилизированные аллотрансплантаты, а также их комбинация (аутоаллотрансплантаты) или комбинированная остеопластика. Хотя техническое выполнение операций из замещения дефектов нижней челюсти этими способами несложное, но они характеризуются большим количеством недостатков. Основными недостатками аваскулярных костных трансплантатов являются отторжения, достаточно частая их резорбция, трудности фиксации съемного протеза в реабилитационном периоде и др. Имплантация является собой способ замены отсутствующих зубов искусственными аналогами. Одним из положительных моментов данной технологии есть то, что имплантаты должным образом фиксируются и тем самым обеспечивают эффективное возобновление жевательной функции и эстетических форм лица, таким образом выполняется ортопедическая реабилитация больных. Одним из направлений решения этой проблемы есть замещение больших дефектов нижней челюсти с одномоментным созданием ретенционных пунктов и вживлением зубных имплантатов. Но известно, что лучевая терапия значительно ухудшает условия для проведения протезирования имплантатами. Последнее задание приобретает особенную актуальность при замещении костными трансплантатами значительных дефектов и вживление, после которого будет проведена лучевая терапия.

Ключевые слова: доза облучения, импланты, крысы, протезирование.

Вступ

Для заміщення дефектів нижньої щелепи використовуються аваскулярні аутоотрансплантати, формалізовані або ліофілізовані аллотрансплантати, а також їх комбінація (аутоаллотрансплантація) або комбінована остеопластика [1, 4]. Хоча технічне виконання операцій із заміщення дефектів нижньої щелепи цими способами нескладне, але вони характеризуються великою кількістю недоліків. Основними недоліками аваскулярних кісткових трансплантатів є відторгнення, досить часто їх резорбція, труднощі фіксації знімного протеза в реабілітаційному періоді та інше. Імплантація являє собою спосіб заміни відсутніх зубів штучними аналогами [3, 6, 7, 11]. Одним із позитивних моментів даної технології є те, що імпланти належним чином фіксуються і тим самим забезпечують ефекти-

вне відновлення жувальної функції та естетичних форм обличчя, таким чином виконується ортопедична реабілітація хворих [10]. Одним з напрямків вирішення цієї проблеми є заміщення великих дефектів нижньої щелепи з одномоментним створенням ретенційних пунктів та імплантацією зубних імплантатів. Але відомо що променева терапія значно погіршує умови для проведення протезування імплантатами. Останнє завдання набуває особливої актуальності при заміщенні кістковими трансплантатами значних дефектів та імплантацію, після якої буде проведена променева терапія [5, 9, 12, 13].

Мета. Провести розрахунки найбільш оптимальної дози для локального опромінення, що не викликає суттєвих порушень у процесі імплантації титанових імплантів.

* Цитування при атестації кадрів: Муковоз О.Є. Експериментальне обґрунтування вибору ефективної дози опромінення хворим на новоутворення щелепно-лицевої ділянки для створення ретенційних пунктів (експериментальне дослідження – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 50-53.

Матеріали та методи дослідження

З 2010 року у ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» на кафедрі онкології та радіології з радіаційною медициною при Полтавському обласному клінічному онкологічному диспансері разом із кафедрою ортопедичної стоматології хворим на новоутворення щелепно-лицевої ділянки виконується комплексне лікування. Яке включає в себе хіміопроменеву терапію, хірургічне лікування та протезування знімними конструкціями, або одночасне хірургічне лікування з утворенням ретенційних пунктів під протезування. Але відомо що променева терапія значно погіршує умови для проведення протезування. Таким чином повстало питання для розрахування оптимальної дози опромінення, яке б не призводило до остеопорузу та секвестрації, а давало б змогу утримання титанових штифтів для подальшого протезування.

У роботі використовувалася радіаційна модель рентгенівського опромінення на апараті РУМ-17м на праву щоку 70 статевозрілим білим лабораторним щурам породи Wistar з середньою масою тіла 200-220 грамів (наркотизованої з використанням препаратів амінозін – 125 мг/кг і кетамін – 250 мг/кг та зафіксованої) у дозі 20,0 Гр в таких умовах: напруга на трубіці 130 кВ, сила току 13 мА, без фільтра, тубус F – 45 см, потужність дози 1,36 Гр/мін, доза 20,0 Гр, Езф. = 40,0 кЗВ, з дотриманням правил гуманного поводження з тваринами. Тварин утримували в умовах віварію при кімнатній температурі з 12-часовим циклом світло/темрява, з вільним доступом до їжі та води, на стандартній дієті у відповідності з нормами утримання лабораторних тварин [8].

Результати та обговорення

Кістки нижньої щелепи у інтактних щурів характеризуються типовими для цього виду лабораторних тварин параметрами (рис.1). Форма та розмір альвеол відповідають кореням зубів, що знаходяться у них. Стінка альвеол покрита компактною пластинкою, що візуалізується у вигляді чіткої ділянки остеосклерозу. Періодонтальна щілина визначається у вигляді тонкої смуги темної речовини без патологічних змін. Кістка альвеолярного відростку має трабекулярну структуру, при цьому відсутні дегенеративні ознаки. Кортикальна пластинка альвеолярного відростку не змінена. Коронки та корні зубів без патологічних змін [15, 16].

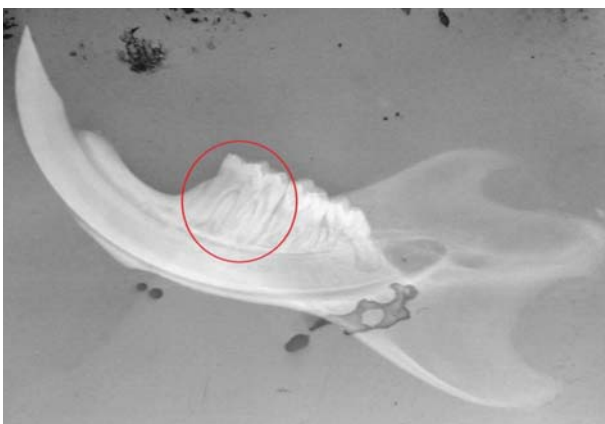


Рис. 1. Рентгенограма нижньої щелепи інтактного щура.

Наступною групою були тварини яким після видалення зуба проводили імплантацію без опромінення (контрольна група). При аналізі рентгенограм встановлено, що кістка нижньої щелепи після імплантації

характеризується відсутністю гіпертрофії кісткової тканини (рис. 2). Навколо імплантату кісткова тканина має виражену трабекулярну структуру. Ознаки деградації не вбачаються. Кортикальні пластинки альвеолярного відростка знаходяться в гарному стані.

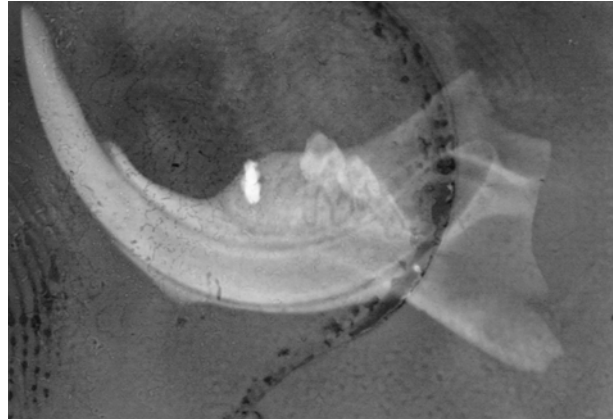


Рис. 2. Стан кістки нижньої щелепи в місці видалення молярів і дентальної імплантації при розвитку репаративних процесів без опромінення, 21 день (рентгенограма).

Іншою експериментальною групою були щури яким проводили локальне опромінення нижньої щелепи з уведеним імплантом і мінімальною дозою у 20-40 Гр. При цьому встановлено, що кістка нижньої щелепи після імплантації має аналогічні рентгенологічні характеристики, що до попередньої групи тварин без опромінення, але дещо виражена гіпертрофія кісткової тканини на 21 день від початку експерименту (рис. 3). Навколо титанового імплантата кісткова тканина мало виражену трабекулярну структуру. Ознаки деградації на рентгенограмі не вбачаються. Кортикальна пластинка альвеолярного відростка знаходиться в задовільному стані. Слід відмітити, що відторгнення титанових імплантів у ранній і наступні терміни після імплантації у цій групі тварин не спостерігалось.



Рис. 3. Стан кістки нижньої щелепи після дентальної імплантації при розвитку остеоінтеграції на фоні місцевого опромінення 20-40 Гр., 21 день (рентгенограма).

Нижньощелепна кістка після імплантації з наступним локальним опроміненням, що відповідає дозі 41-60 Гр характеризується наявністю чужорідного тіла високої щільності в лунці видаленого зуба. Кісткова тканина навколо імплантата має ознаки незначного запалення та регенерації. (рис. 4). Навколо імпланта-

ту кісткова тканина мала виражену трабекулярну структуру. Ознаки деградації не відмічалися. Кортикальної пластинки альвеолярного відростка знаходиться в доброму стані. При цьому спостерігалось відторгнення титанового імплантата у 1 з 10 тварин у ранній період після імплантації ($p > 0,25$ ч²) порівнянні з контрольною групою.

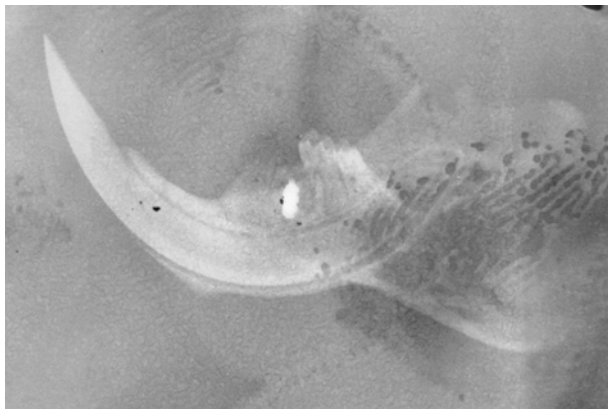


Рис. 4. Стан кістки нижньої щелепи після дентальної імплантації при розвитку остеоінтеграції на фоні місцевого опромінення 41-60 Гр, 21 день (рентгенограма).

Дещо інша рентгенологічна картина спостерігалась у експериментальних тварин яким проводили локальне опромінення у дозі 61-70 Гр. У щурів на рентгенограмах нижньої щелепи після дентальної імплантації і опромінення на 21 добу відмічалось чужорідне тіло високої щільності в лунці видаленого зуба, яке відповідало уведеним металевим імплантам (рис. 5). Кісткова тканина навколо імплантата мала ознаки запалення. Губчаста речовина альвеолярного відростку з недостатньо вираженими трабекулами. Кортикальна пластинка альвеолярного відростка мала не чіткі контури і патологічні зміни у вигляді явищ остеопорозу. У 4-х з 10-ти щурів даної групи спостерігалась втрата введенного імплантата в ранні терміни експерименту ($p < 0,001$ ч²) у порівнянні з контрольною групою тварин без опромінення.



Рис. 5. Стан кістки нижньої щелепи після дентальної імплантації при розвитку остеоінтеграції на фоні місцевого опромінення 61-70 Гр., 21 день (рентгенограма).

У експериментальних тварин при рентгенівському опроміненні у дозі > 70 Гр у всіх випадках відмічалась втрата введених титанових імплантів у ранні терміни після імплантації. На рентгенограмі кісткова тканина навколо імплантата мала суттєві ознаки запалення та остеопорозу.

Висновки

Таким чином, аналіз представлених експериментальних даних свідчить, що локальне опромінення тварин у дозі 20-40 Гр і 41-60 Гр суттєво не погіршує процеси репарації і регенерації, а також не призводить до відторгнення титанових імплантів у ранній та пізній періоди імплантації. При цьому, збільшення дози опромінення від 61 Гр і більше супроводжувалось розвитком запалення у кістковій тканині навколо імплантата, патологічними змінами стану трабекул губчастої речовини і кортикальної пластинки альвеолярного відростка та явищами у вигляді остеопорозу. Слід відзначити, що такі зміни у кістковій тканині не сприяли нормальному розвитку процесів імплантації титанових імплантів і призводили до їх відторгнення у різні терміни від початку експерименту. Завдяки експерименту ми маємо змогу передбачити можливі наслідки у хворого після променевої терапії більше ніж 70 Гр і не використовувати метод реабілітації титановими імплантатами, а вдатися до реабілітації аваскулярними аутоотрансплантатами, формалінізованими або ліофілізованими алотрансплантатами, або комбінованої остеопластики.

Література

1. Ахметьянов А. Ш. Реконструкция дефектов нижней челюсти никелид-титановыми эндопротезами / А. Ш. Ахметьянов, Н. М. Дюрягин, М. Л. Перлухин // Биосовместимые материалы с памятью формы и новые технологии в стоматологии. – Томск: ИПФ; изд-во НТЛ, 2003. – С. 87-89.
2. Вербо Е. В. Пластическое устранение комбинированных дефектов нижней зоны лица реvascularизированными аутоотрансплантатами: дисс. канд. мед. наук / Вербо Е. В. – М., 1998. – 219 с.
3. Воробьев Ю. И. Лучевая терапия злокачественных опухолей челюстно-лицевой области и стоматологические проблемы / Ю. И. Воробьев // Российский стоматологический журнал. – 2006. – №5. – С. 18-19.
4. Воронин В. С. Динамическое наблюдение больных злокачественными опухолями челюстно-лицевой области после комбинированного лечения / В. С. Воронин, М. И. Иванов, В. С. Лосев, Н. Ф. Руцкий // Вопросы реактивности и адаптации в стоматологии. – Смоленск, 1995. – Т.55. – С. 61—64.
5. Гаджикулиев А. А. Реабилитация больных с дефектами верхней челюсти с использованием лечебных аппаратов на имплантатах: автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук: спец. / А. А. Гаджикулиев. – Москва, – 2002. – 23 с.
6. Применение аллогенных и полимерных материалов при костно-реконструктивных вмешательствах на лицевого черепа: материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции / Гунько В.И. – М.: «Медицинская книга», 2002. – С. 132-134.
7. Железный С.П. Использование эндооссальных дентальных имплантатов в реконструкции лицевого черепа / С. П. Железный // Shape Memory Biomaterials and Implants. Proceedings of international conference. June 28-30, Tomsk, Russia. – Northampton, MA: STT, 2001. – P. 327-328.
8. Западнюк И.П. Лабораторные животные, их разведение и использование в эксперименте / Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. – Киев : 1982.
9. Комбинированное и комплексное лечение больных злокачественными опухолями : руководство для врачей / под ред. В. И. Чисова. – М.: Медицина, 1989. – 560 с.
10. Костур Б. К. Челюстно-лицевое протезирование: монография / Б. К. Костур, В. А. Миняева. – Л. : Медицина, 1985. – 163 с.
11. Молчанов Н.А. Ортопедическая стоматология с использованием литейного сплава на основе никелида титана / Н. А. Молчанов, В. Э. Гюнтер, М. А. Звигинцев // Биосовместимые материалы с памятью формы и новые технологии в медицине. – Томск: ИПФ; изд-во НТЛ, 2004. – С. 368-369.

12. Оксман И. М. Челюстно-лицевая ортопедия: монография / И. М. Оксман. – М.: Медгиз, 1957. – 248 с.
13. Онкологія щелепно-лицевої ділянки: [навч. посібник для студентів та лікарів-інтернів стоматологів] / О. В. Рибалов, А. Л. Одабаш'ян, Н. О. Соколова, Л. М. Саяпіна. – Полтава : ТОВ АСМІ, 1999. – 109 с.
14. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи / Пачес А. И. – М.: Медицина, 1983. – 415 с.
15. Раджапова М. У. Сравнительная оценка реакции слизистой оболочки при разноразмерной химиолучевой терапии рака полости рта и глотки / М. У. Раджапова, Ю. С. Мардынский, И. А. Гулидов и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – Т.43, №1. – С. 11-15.
16. Сокурено В. П. Опыт конформной лучевой терапии больных с опухолями орофарингеальной зоны / В. П. Сокурено, Л. И. Корытова, Т. Н. Бочкарева // Медицинская физика. – 2009. – Т. 41, № 1. – С. 39.

English version: EXPERIMENTAL JUSTIFICATION OF SELECTING THE EFFECTIVE EXPOSURE DOSES FOR PATIENTS WITH MAXILLOFACIAL AREA TUMORS FOR ESTABLISHING THE RETENTION POINTS (EXPERIMENTAL STUDY) *

Mukovoz O.Ye.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava, Ukraine

For building the mandibular defects the avascular autotransplants, formalinized or lyophilized allotransplants, as well as their combination (autoallotransplants) or combined osteoplasty are used. Although the technical performance of the lower jaw defects operations by these ways is rather simple, it is characterized by a large number of drawbacks. The main disadvantages of avascular bone grafts are rejection, their common resorption, the difficulty of fixing the denture during the rehabilitation period, etc. Implantation represents a way to replace missing teeth with artificial counterparts. One of the positive aspects of this technology is that the implants are properly fixated and thus provide an effective resumption of chewing function and aesthetic forms of face; in such a manner, the orthopedic rehabilitation of patients is also performed. One of the ways to solve this problem is replacement of large defects of the lower jaw with simultaneous creation of retention points and implantation of dental implants. However, it is known that radiation therapy significantly worsens the conditions for prosthetic implants. The latter task is of particular relevance during the replacement of major defects with bone grafts and implantation after which the radiation therapy will be held.

Key words: radiation dose, implants, rats, prosthetic care

Introduction

In order to replace the lower jaw defects, the avascular autotransplants, formalinized or lyophilized allotransplants, and their combination (autoallotransplantation) or combined osteoplasty are used [1, 4]. Although the lower jaw defects replacements are not technically difficult, these surgeries are characterized by a large number of shortages. The main disadvantages of avascular bone grafts are their rejection, frequent resorption, the difficulty of fixing the denture in the rehabilitation period, and others. Implantation is a way of replacing the missing teeth with artificial counterparts [3, 6, 7, 11]. One of the positive aspects of this technology is the fact that implants are properly fixated, and thus they ensure the effective restoration of masticatory function and facial aesthetic forms; in such a way, the orthopedic rehabilitation of patients is performed [10]. One aspect of solving this problem is the replacement of lower jaw large defects with the single-step creation of retention points and implantation of dental implants. But it is known that radiation therapy worsens the conditions for prosthetic care. The latter task is of particular relevance during the replacement of significant defects with bone graft and implantation which will be held after radiotherapy [5, 9, 12, 13].

The aim of the research is to perform the calculations for the most optimal dose of local irradiation which does

not cause the significant disturbances in the process of titanium implants implantation.

Materials and methods of the research

The comprehensive treatment of patients with maxillofacial area tumors which includes chemoradiotherapy, surgery and prosthetics with removable structures, or simultaneous surgical treatment with the formation of the prosthesis retention points has been performed at Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy" at the department of oncology and radiology with radiation medicine (Poltava Regional Clinical Oncological Dispensary) together with the prosthetic dentistry department since 2010. However, it is known that radiation therapy worsens the conditions for prosthetics. Thus, the question was raised to calculate the optimal dose that would not lead to osteoporosis and sequestration, and would provide the retention of titanium pins for subsequent prosthesis.

The paper used the radiation pattern of X-irradiation on the apparatus RUM-17m at the right cheek of 70 mature white laboratory rats of Wistar breed with average weight of 200-220 grams (anesthetized using aminozin – 125 mg / kg and ketamine – 250 mg / kg and fixed) at a dose of 20.0 Gy under the following conditions: tube voltage 130 kV, current strength 13 mA, without filter, tube F

* To cite this English version: Mukovoz O.Ye. . Experimental justification of selecting the effective exposure doses for patients with maxillofacial area tumors for establishing the retention points (experimental study) // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 53 -55.

– 45 cm, dose rate of 1.36 Gy / min, the dose of 20.0 Gy Eef. = 40.0 keV, subject to the rules of humane treatment of animals. Animals were kept in vivarium at room temperature with 12 hours-cycle light / darkness, with free access to food and water on a standard diet in accordance with the norms of laboratory animals maintenance [8].

Results and discussion

The lower jaw bones in intact rats are characterized by the parameters typical for this type of laboratory animals (Fig. 1). The shape and size of alveoli correspond to the roots of teeth which are in them. Alveolar wall is covered with compact plate which is visualized as clear areas of osteosclerosis. Periodontal gap is defined as a thin strip of dark substance without pathological changes. Alveolar process bone has a trabecular structure, with no degenerative signs. Cortical plate of the alveolar process is not changed. Crowns and roots of teeth do not reveal pathological changes [15, 16].



Fig. 1. Lower jaw radiograph of the intact rat.

The next group consisted of animals which underwent implantation without irradiation after the tooth removal (the control group). During the analysis of X-ray it has been revealed that the lower jaw bone after implantation is characterized by the absence of bone hypertrophy (Fig. 2). The bone tissue reveals a marked trabecular structure around the implant. The signs of degradation are not revealed. The cortical plates of alveolar ridge are in good condition.



Fig. 2. The condition of the lower jaw bone in the place of molars removal and dental implantation by the development of reparative processes without irradiation, the 21st day (X-ray).

Another experimental group consisted of rats that underwent local irradiation of the lower jaw with inserted implant and the minimum dose of 20-40 Gy. It has been found that the lower jaw bone after implantation reveals similar radiological characteristics as compared to the previous group of animals without irradiation; however, a slightly marked hypertrophy of bone tissue on the 21st day of the experiment has been discovered (Fig. 3). The bone tissue has revealed a pronounced trabecular structure around the titanium implant. The signs of degradation are not seen at the radiographs. The condition of cortical plate of the alveolar process is satisfactory. It should be noted that the exclusion of titanium implants in the early and subsequent periods after implantation in this group of animals was not observed.



Fig. 3. The condition of the lower jaw bone after dental implantation by the development of osseointegration against the backdrop of local irradiation of 20-40 Gy., the 21st day (X-ray).

The lower jaw bone after implantation, followed by local irradiation which corresponds to a dose of 41-60 Gy reveals the presence of a high density foreign body in the alveolar socket of the removed tooth. The bone tissue around the implant demonstrates the signs of slight inflammation and regeneration. (Fig. 4). The bone tissue around the implant reveals a pronounced trabecular structure. Signs of degradation have not been reported. Cortical plate of the alveolar process is in good condition. Meanwhile, the titanium implant rejection was observed in 1 out of 10 animals in the early period after implantation ($p > 0,25$ p^2) as compared to the control group.

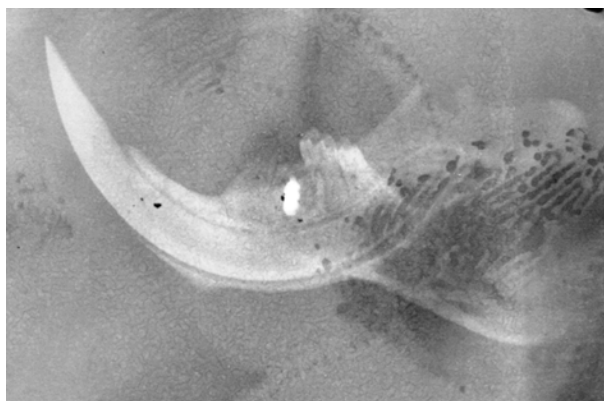


Fig. 4. The condition of the lower jaw bone after dental implantation by the development of osseointegration against the backdrop of local irradiation of 41-60 Gy, the 21st day (X-ray).

A somewhat different picture is observed in the X-ray experimental animals that underwent local irradiation at a dose of 61-70 Gy. A high density foreign body in the alveolar socket of the removed tooth was revealed in rats at the lower jaw radiographs after dental implantation and irradiation on the 21st day which corresponded to the inserted metal implant (Fig. 5).

The bone tissue around the implant demonstrated the signs of inflammation. Spongy substance of alveolar process revealed the insufficiently pronounced trabeculae. The cortical plate of alveolar process demonstrated unclear contours and abnormal phenomena in the form of osteoporosis. In 4 out of 10 rats of this group the loss of the inserted implant was observed at the early stages of the experiment ($p < 0,001 p^2$) as compared to the control group of animals without irradiation.



Fig. 5. The condition of the lower jaw bone after dental implantation by the development of osseointegration against the backdrop of local irradiation 61-70 Gy., the 21st day (X-ray).

In experimental animals with X-ray irradiation at a dose of > 70 Gy the loss of the inserted titanium implants was recorded in all cases at the early stages after implantation. The bone tissue around the implant at the radiographs revealed the significant signs of inflammation and osteoporosis.

Conclusions

Thus, the analysis of the experimental data shows that local irradiation of animals at doses of 20-40 Gy and 41-60 Gy does not significantly impair the processes of reparation and regeneration, and does not lead to the rejection of titanium implants in the early and late periods of implantation. In addition, the increasing of the dose from 61 Gy and more was accompanied by the development of inflammation of the tissue around the implant, by pathological changes in the trabeculae of spongy substance and cortical plate of the alveolar process, as well as by such phenomena as osteoporosis. It should be noted that these changes in bone tissue did not contribute to the normal development process of implantation of titanium implants and led to their rejection during different periods of the experiment. Through the performed experiment, one can predict the consequences for the patient after radiotherapy more than 70 Gy and therefore do not use the method of titanium implants rehabilitation; instead one can resort to the avascular autotransplants, formalinized or lyophilized allotransplants and combined osteoplasty.

References

1. Achmetyanov A. Sh. Rekonstruktsiya defektov nizhney chelyusti nikelid-titanovymi endoprotezami / A. Sh. Achmetyanov, N. M. Dyuryagin, M. L. Perluchin // Biosovmestimye materialy s pamyat'yu formy i novye tekhnologii v stomatologii. – Tomsk: IPF; izd-vo NTL, 2003. – S. 87-89.
2. Verbo E. V. Plasticheskoe ustranenie kombinirovannykh defektov nizhney zony liza revaskulyarizirovannymi autotransplantatami: diss. kand. med. nauk / Verbo E. V. – M., 1998. – 219 s.
3. Vorob'yev Yu. I. Luchevaya terapiya zlokachestvennykh opucholey chelyustno-lizevoy oblasti i stomatologicheskie problemy / Yu. I. Vorob'yev // Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal. – 2006. – №5. – S. 18-19.
4. Voronin V. S. Dinamicheskoe nablyudenie bol'nykh zlokachestvennykh opucholyami chelyustno-lizevoy oblasti posle kombinirovannogo lecheniya / V. S. Voronin, M. I. Ivanov, V. S. Losev, N. F. Ruzkiy // Voprosy reaktivnosti i adaptazii v stomatologii. – Smolensk, 1995. – T. 55. – S. 61–64.
5. Gadzhikuliev A. A. Reabilitatsiya bol'nykh s defektami verkhney chelyusti s ispol'zovaniem lechebnykh apparatov na implantatach: avtoref. diss. na soiskanie uchenoy stepeni kand. med. nauk: spets. / A. A. Gadzhikuliev. – Moskva, – 2002. – 23 s.
6. Primenenie allogennykh i polimernykh materialov pri kostno-rekonstruktivnykh vmeshatel'stvakh na lizevom cherepe: materialy VIII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii / Gun'ko V. I. – M.: «Meditsinskaya kniga», 2002. – S. 132-134.
7. Zheleznyy S. P. Ispol'zovanie endoossal'nykh dental'nykh implantatov v rekonstruktsii lizevogo cherepa / S. P. Zheleznyy // Shape Memory Biomaterials and Implants. Proceedings of international conference. June 28-30, Tomsk, Russia. – Northampton, MA: STT, 2001. – P. 327-328.
8. Zapadnyuk I. P. Laboratornye zhivotnye, ich razvedenie i ispol'zovanie v eksperimente / Zapadnyuk I. P., Zapadnyuk V. I., Zachariya E. A. – Kiev : 1982.
9. Kombinirovannoe i kompleksnoe lechenie bol'nykh zlokachestvennykh opucholyami : rukovodstvo dlya vrachey / pod red. V. I. Chisova. – M.: Medizina, 1989. – 560 s.
10. Kostur B. K. Chelyustno-lizevye protezirovaniye: monografiya / B. K. Kostur, V. A. Minyaeva. – L. : Medizina, 1985. – 163 s.
11. Molchanov N. A. Ortopedicheskaya stomatologiya s ispol'zovaniem liteynogo splava na osnove nikelida titana / N. A. Molchanov, V. E. Gyunter, M. A. Zviginzev // Biosovmestimye materialy s pamyat'yu formy i novye tekhnologii v medizine. – Tomsk: IPF; izd-vo NTL, 2004. – S. 368-369.
12. Oksman I. M. Chelyustno-lizevaya ortopediya: monografiya / I. M. Oksman. – M.: Medgiz, 1957. – 248 s.
13. Onkologiya schelepno-lizevoi dilyanki: [navch. posibnik dlya studentiv ta likariv-interniv stomatologiv] / O. V. Ribalov, A. L. Odabash'yan, N. O. Sokolova, L. M. Sayapina. – Poltava : TOV ASMI, 1999. – 109 s.
14. Paches A. I. Opucholi golovy i shei / Paches A. I. – M. : Medizina, 1983. – 415 s.
15. Radzhapova M. U. Sravnitel'naya ozenka reakzii slizistoy obolochki priraznofraktsionnoy khimioluchevoy terapii raka polosti rta i glotki / M. U. Radzhapova, Yu. S. Mardynskiy, I. A. Gulidov i dr. // Sibirskiy onkologicheskii zhurnal. – 2011. – T. 43, №1. – S. 11-15.
16. Sokurenko V. P. Opyt konformnoy luchevoj terapii bol'nykh s opucholyami orofaringeal'noy zony / V. P. Sokurenko, L. I. Korytova, T. N. Bochkareva // Meditsinskaya fizika. – 2009. – T. 41, № 1. – S. 39.

Матеріал надійшов до редакції 27.09.2013 р.

© Скочко О. В., Весніна Л. Е., Боброва Н. О., Шликова О. А., Мамонтова Т. В., Ізмайлова О. В., Кайдашев І. П.
УДК 616.132.2-004.6-008.87-092

АНАЛІЗ ОКРЕМИХ ГРУП МІКРООРГАНІЗМІВ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ АТЕРОСКЛЕРОТИЧНО ЗМІНЕНИХ КОРОНАРНИХ АРТЕРІЙ ХВОРИХ, В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД 896 A/G ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА TLR4*

Скочко¹ О. В., Весніна² Л. Е., Боброва² Н. О., Шликова² О. А., Мамонтова² Т. В., Ізмайлова² О. В., Кайдашев¹ І. П.

¹Кафедра внутрішньої медицини №3, ²НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, Україна

*Изучены образцы коронарных сосудов, полученные при аутопсии 31 умершего от ишемической болезни сердца (ИБС) и 5 здоровых людей. Пародонтопатогенные микроорганизмы обнаружены в 83,9%. В 51,6% случаев выявлялось 2 и более микроорганизмов. У больных, умерших от ИБС, достоверно чаще встречалась аллель 896 G гена TLR4 ($p=0,04$), ОШ 2,92 (1,15-7,41). Наличие в генотипе индивидуумов полиморфного аллеля G гена TLR4 определяет повышенную контаминацию тканей бляшки представителями следующих видов: *Lactobacillus sp.*, *Enterobacterium sp.*, *Sneathia sp.*, *Leptotrichia sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Mobiluncus sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Peptostreptococcus sp.* Полученные результаты подтверждают возможное участие указанных групп микроорганизмов в патогенезе атеросклероза, а также роль полиморфного варианта гена TLR4 в повышенной микробной контаминации тканей коронарных артерий.*

Ключевые слова: пародонтопатогенные микроорганизмы, атеросклероз, полиморфизм, Toll-подобный рецептор 4.

Дослідження останніх років переконливо довели, що в основі патогенезу атеросклерозу лежить хронічний запальний процес, що призводить до пошкодження ендотелію та формування в стінці артерій атеросклеротичних бляшок. Тому, все більше уваги приділяється інфекційним агентам, як можливим етіологічним факторам ініціації та прогресування атерогенезу [3, 7].

Актуального значення набуває концепція ініціації процесів атерогенезу при взаємодії екзогенних і ендогенних мікробних лігандів з Toll-подібними рецепторами (TLRs). Генетична мінливість TLR може визначати відмінності в сприйнятливості організмів до бактерій та вірусів, інтенсивності запального процесу [9].

Метою даної роботи стало встановити присутність окремих груп мікроорганізмів, в тому числі парадонтопатогенних, в атеросклеротичній бляшці і навколишніх тканинах та залежність рівня мікробного обсіменіння від поліморфізму 896A/G гена TLR4 (rs4986790), а також виявити можливий зв'язок розвитку атеросклерозу і 896 A/<A/G поліморфізму гена TLR4 у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС).

Матеріали та методи дослідження

Досліджено 31 зразок аутопсійного матеріалу тканин коронарних артерій померлих внаслідок ІХС, що отримані у асептичних умовах. Контрольну серію склали зразки від 5 померлих без ІХС. Дослідження проводили з дозволу комісії з біоетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія».

Виділення ДНК з тканини проводили лізуючим методом з використанням набору для виділення ДНК з біопатів «Хелікопол» (НПФ «Літех», Москва) та отримували розчин ДНК, який використовували для подальшого якісного визначення парадонтопатогенів. Якісне визначення ДНК парадонтопатогенних мікроорганізмів (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Специфічну ділянку ДНК ампліфікували на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технологія», Москва) з використанням специфічних мультиплексних олігонуклеотидних праймерів, використовуючи набір «МультиДент» (ТОВ НВФ «Гентех», Росія). Ідентифікацію ДНК проводили за допомогою електрофорезу в 2% агарозному гелі, забарвленому етідіумом бромідом з наступною візуалізацією в УФ світлі і фотографуванням. Отриманий розчин ДНК використовували для подальшої кількісної оцінки біоти в досліджуваних зразках, яку проводили методом мультиплексної ПЛР в режимі реального часу на детектуючому ампліфікаторі ДТ-322 (НВО «ДНК-Технологія», Москва) за допомогою набору реагентів «Фемофлор» («ДНК-Технологія», Москва), що дозволяє визначати такі показники, як загальна бактеріальна маса і мікроорганізми / групи мікроорганізмів: *Lactobacillus sp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas sp.*, *Eubacterium sp.*, *Sneathia sp.* / *Leptotrichia sp.* / *Fusobacterium sp.*, *Megasphaera sp.* / *Veillonella sp.* / *Dialister sp.*, *Lachnobacterium sp.* / *Clostridium sp.*, *Mobiluncus sp.* /

* Цитування при атестації кадрів: Скочко О. В., Весніна Л. Е., Боброва Н. О., Шликова О. А., Мамонтова Т. В., Ізмайлова О. В., Кайдашев І. П. Аналіз окремих груп мікроорганізмів, виділених із атеросклеротично змінених коронарних артерій хворих, в залежності від Asp299Gly поліморфізму гена TLR4 // Проблеми екології і медицини. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 56–58.

Corynebacterium sp., Peptostreptococcus sp., Atopobium (At.) vaginae, Mycoplasma (M.) (genitalium + hominis), Ureaplasma (urealyticum + parvum), Candida sp. Поліморфну ділянку 896A/G гена TLR4 ампліфікували методом ПЛР з використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою стандартного пакету програм «STATISTICA 6.0» (StatSoft Inc., США). При порівнянні показників і їх взаємозв'язків використовували непараметричні методи: критерій Вілкоксона, t-тест, внутрішньогрупові кореляції і коваріації. Статистично значущими вважали відмінності при $P < 0,05$. Порівняння частот генотипів між досліджуваними групами проводили шляхом аналізу таблиць поєднання 3×2 за допомогою точного тесту Фішера. Для порівняння частот варіантів у незв'язаних групах обчислювали відношення шансів (ВШ) з визначенням 95% довірчого інтервалу (ДІ).

Результати дослідження та їх обговорення

У відповідності з метою дослідження нами були вивчені зразки аутопсійного матеріалу тканин коронарних артерій 31 пацієнта, що померли від ІХС, і 5 пацієнтів, які померли в результаті інших причин і не мали уражень коронарних артерій. Аналіз 5 зразків тканин коронарних артерій пацієнтів, померлих від причин, не пов'язаних з атеросклерозом, показав відсутність мікроорганізмів в судинній стінці.

При аналізі наявності основних пародонтопатогенних мікроорганізмів у тканинах атеросклеротичних

бляшок коронарних артерій виявлено присутність хоча б одного з мікроорганізмів у 26 з 31 пацієнтів, що склало 83,9%. Найчастіше виявлялися P. gingivalis - 64,5%, T. denticola - 41,9%, A. actinomycetemcomitans - 32,3%, менш часто виявлялись B. forsythus і P. intermedia - 12,9% і 6,5%, відповідно. Слід зазначити, що присутність трьох мікроорганізмів виявлялась в 22,6% зразків. Переважали мікробні асоціації, утворені P. gingivalis, T. denticola, A. actinomycetemcomitans.

На наступному етапі дослідження нами була вивчена частота виявлення поліморфного варіанту 896A/G гена TLR4 серед осіб полтавської популяції ($n = 100$) і серед пацієнтів, померлих від ІХС ($n = 31$). Частота розподілу поліморфного варіанту гена TLR4 в обох групах відповідала закону Харді-Вайнберга (χ^2 Пірсона з поправкою Йетса 0,79 і 2,67, відповідно). При порівнянні частоти генотипів (табл. 1) нами виявлена тенденція до збільшення частоти виявлення генотипів AG і GG в групі пацієнтів, померлих від ІХС ($p = 0,086$). У всіх зразках аутопсії виявлені досліджувані групи мікроорганізмів, за винятком At. vaginae і M. hominis і M. genitalium. Також встановлено, що серед померлих від ІХС достовірно частіше зустрічалася алель G ($p = 0,04$), ВШ 2,92 (1,15-7,41) при 95% ДІ.

У біопатному матеріалі виявлено 15 зразків з генотипом AA гена TLR4, 3 - з генотипом AG і 2 - з GG. Враховуючи низьку частоту алеля G, генотипи AG і GG були об'єднані в одну групу як носії алеля G.

Таблиця 1
Розподіл частоти генотипів і алелей поліморфізму 896A/G гена TLR4 серед осіб полтавської популяції померлих від ІХС, % (n)

Ген, поліморфізм	Частота генотипу	Група популяційного контролю (n=100)	Група померлих від ІХС (n=31)	p*	Частота алеля	Група популяційного контролю	Група померлих від ІХС	χ^2 Пірсона, df=1	ВШ (95% ДІ)	p**
TLR4 896A/G	AA AG GG	90 (90) 9 (9) 1 (1)	77,42 (24) 16,13 (5) 6,45 (2)	0,086	A G	94,5 (189) 5,5 (11)	85,5 (53) 14,5 (9)	4,25	2,92 (1,15-7,41)	0,04

p* - рівень значущості, отриманий точним тестом Фішера;

p** - рівень значущості, отриманий тестом χ^2

Згідно отриманих результатів (табл. 2), у носіїв алеля G (AG і GG) був достовірно більш високий вміст мікробної ДНК групи Lactobacillus sp. - $4,20 \pm 0,62$ проти $3,01 \pm 0,14$ у носіїв генотипу AA ($p < 0,05$), Enterobacterium sp. - $4,68 \pm 0,87$ проти $3,09 \pm 0,17$ ($p < 0,05$), Sneatia sp. / Leptotrichia sp. / Fusobacterium sp. - $3,47 \pm 0,60$ проти $1,78 \pm 0,16$ ($p < 0,05$), Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp. - $3,06 \pm 0,46$ проти $2,18 \pm 0,10$ ($p < 0,05$), Peptostreptococcus sp. - $3,08 \pm 0,67$ проти $2,00 \pm 0,11$ ($p < 0,05$). Для уточнення можливих мікробних асоціацій та їх взаємозв'язку з наявністю або відсутністю поліморфного варіанта TLR4 були досліджені внутрішньогрупові кореляції. Серед носіїв генотипу AA були виявлені позитивні достовірні ($p < 0,05$) кореляційні зв'язки між кількістю ген-еквівалентів наступних пар: Lactobacillus sp. - Enterobacterium sp. (0,984877); Lactobacillus sp. -Staphylococcus sp.

(0,781613); Lactobacillus sp. -Eubacterium sp. (0,554622); Lactobacillus sp. -Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp. (0,773681); Enterobacterium sp. - Staphylococcus sp. (0,793504) і Enterobacterium sp. - Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp. (0,771553); Staphylococcus sp. -Eubacterium sp. (0,697129) і Staphylococcus sp. -Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp. (0,613646). Серед носіїв алеля G (генотипи AG і GG) спостерігалися також достовірні позитивні кореляції, за винятком відсутності пари Lactobacillus sp. - Eubacterium sp. і появою нових: Lachnobacterium sp. / Clostridium sp. -Lactobacillus sp. (0,826326); Lachnobacterium sp. / Clostridium sp. - Enterobacterium sp. (0,854616); Lachnobacterium sp. / Clostridium sp. - Staphylococcus sp. (0,831228) і Lachnobacterium sp. / Clostridium sp. -Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp. (0,909823).

Таблиця 2
Число ген-еквівалентів груп мікроорганізмів, виділених з атеросклеротично змінених коронарних артерій, пацієнтів з різноманітними генотипами гена Toll-подібного рецептора 4 (TLR4)

Генотипи	Lactobacillus spp.	Enterobacteriaceae	Streptococcus spp.	Staphylococcus spp.	Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.	Eubacterium spp.	Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.	Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.	Lachnobacterium spp./Clostridium spp.	Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.	Peptostreptococcus spp.	Ureaplasma (urealyticum+ parvum)	Candida spp.
AA (n=15)	3.01±0.14	3.09±0.17	2.38±0.11	2.44±0.13	2.82±0.19	2.84±0.26	1.78±0.16	2.08±0.21	3.48±1.06	2.18±0.10	2.00±0.11	1.74±0.13	3.03±0.05
AG+GG (n=5)	4.20±0.62*	4.68±0.87*	2.96±0.33	3.18±0.64	3.50±0.71	3.24±0.45	3.47±0.60*	2.7±0.45	2.9±0.36	3.06±0.46*	3.08±0.67*	1.76±0.10	3.14±0.10

Примітка: * - достовірність відмінностей між генотипами $p < 0,05$.

Отримані нами дані про наявність мікробної ДНК в тканинах атеросклеротичних бляшок підтверджені в дослідженнях інших авторів. Раніше нами були отримані дані, що поліморфізм гену TLR4 Asp299Gly визначає можливість інфікування найбільш розповсюдженими урогенітальними інфекціями [1], доведений зв'язок даного поліморфізму із ревматоїдним артритом [2]. Опубліковані результати, що при аналізі 454 зразків тканин атеросклеротичних бляшок, аортальної і кишкової мікробіоти у всіх пробах бляшок виявлені Chryseomonas і у більшості - Veillonella і Streptococcus (що корелювало з їх наявністю в ротовій порожнині) [6]. Показано, що P. gingivalis відіграє важливу роль у гіперплазії інтими аорти в осіб з періодонтитом [5]. Отримані нами результати підвищення контамінації атеросклеротично змінених тканин мікроорганізмами у хворих з поліморфним алелем 896G TLR4 можна пояснити зниженою здатністю такої форми рецептора до проведення сигналу, зокрема викликаного грамнегативними бактеріями [4]. Ці дані підтверджують можливість участь зазначених груп мікроорганізмів в патогенезі атеросклерозу, а також роль поліморфного варіанта гена TLR4 в підвищенні мікробної контамінації тканин коронарних артерій. Наявність в генотипі індивідумів з атеросклеротично зміненими коронарними артеріями алеля G гена TLR4 визначає підвищену контамінацію тканин атеросклеротичної бляшки представниками наступних мікроорганізмів: Lactobacillus sp., Enterobacterium sp., Sneathia sp. / Leptotrichia sp. / Fusobacterium sp., Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp., Peptostreptococcus sp.

Висновки

Отже, враховуючи результати наших досліджень певне значення в патогенезі атеросклеротичного ураження коронарних артерій та розвитку ІХС належить поліморфізму гена TLR4. Особи, що несуть алель 299Gly мають шанс захворіти ІХС в 2,92 рази частіше, ніж особи з алелем 896G? 896A. Таким чином для більш детального розуміння генетичної структури схильності до розвитку ІХС необхідно продовжувати дослідження у напрямку вивчення поліморфізму гена TLR4, що наблизить нас до розуміння механізмів взаємодії генетичної мінливості TLR та ініціації про-

цесів атерогенезу. В той же час окремі мікроорганізми, в тому числі пародонтопатогени P. gingivalis, T. denticola, A. actinomycetemcomitans, B. forsythus і P. Intermedia, також можуть відігравати важливу роль у патогенезі ІХС, що потребує подальшого вивчення цієї проблеми, виявлення вогнищ інфекції, їх санації та пошуку нових ефективних схем з можливим використанням антибіотиків в лікуванні ІХС.

Література

1. Кайдашев І.П. Зв'язок поліморфізмів генів TLR2 та TLR4 зі схильністю до окремих урогенітальних інфекцій / І.П. Кайдашев., О.В. Ізмайлова., О.А. Шликова, Н.О. Боброва // Цитология і генетика – 2011. – Т.4, №29. – С. 35.
2. Белоглазова К. В. Поліморфізм гена Toll-like рецептора 4 Asp299Gly у больных ревматоидным артритом / К.В. Белоглазова, О.А. Шлыкова, О.В. Измайлова, И.П. Кайдашев // Проблемы екол. та мед. – 2009. – Т.13, № 5-6. – С. 15-17.
3. Alviar C. L. Infectious atherosclerosis: is the hypothesis still alive? A clinically based approach to the dilemma / C.L. Alviar, J.G. Echevezzi, N.I. Jaramillo [et al] // Med. Hypothesis – 2011. Vol. 76, N 4. – P. 517–522.
4. Balistreri C. R., Role of TLR4 polymorphisms in inflammatory responses: implications for unsuccessful aging / C. R. Balistreri, G. Candore., F. Listi. [et al] // Ann. NY Acad. Sci. – 2007. – Voll. 11. – P. 11–19.
5. Hokamura K., Umemura K. Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases – from molecular mechanisms to clinical cases: Porphyromonas gingivalis is the important role of intimal hyperplasia in aorta // J. Pharmacol. Sci. // 2010. – Vol. 113? N 2. – P. 110–114
6. Koren O. Human oral, gut and plaque microbiota in patients with atherosclerosis / O. Koren, A. Spor., J. Felin. [et al] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. -Vol 108, N 1. – P. 4592–4598.
7. Kurano M., Tsukamoto K. Etiology of atherosclerosis – special reference to bacterial infection and viral infection // Nihon Rinsho – 2011.- Vol. 69, N 1. –P. 25–29.
8. Liadaki K. Toll-like receptor 4 gene (TLR4), but not TLR2, polymorphisms modify the risk of tonsillar disease due to Streptococcus pyogenes and Haemophilus influenza / K. Liadaki., E. Petinaki, C. Skoulakis [et al] // Clin. Vaccine Immunol. – 2011.-Vol.18, N 2.-P. 217–222.
9. Montes A.H. The Toll-like receptor 4 (Asp299Gly) polymorphism is a risk factor for Gram-negative and haematogenous osteomyelitis / A.H. Montes, V. Asensi, V. Alvarez [et al] // Clin. Exp. Immunol – 2006.- Vol. 143, N 3. – P. 404-441

English version: ANALYSIS OF SPECIFIC GROUPS OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM ATHEROSCLEROTIC CORONARY ARTERIES OF PATIENTS DEPENDING ON ASP299GLY POLYMORPHISM OF TLR4 GENE*

Skochko¹ O. V., Vesnina² L. E., Bobrova² N. O., Shlykova² O. A., Mamontova² T. V., Izmaylova² O. V., Kaydashev¹ I. P.

¹Department of Internal Medicine №3, ²SRI of genetic and immunological foundations of pathology development and pharmacogenetics of Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava, Ukraine

The aim of this work was to establish the presence of specific groups of microorganisms, including parodontopathogenic in atherosclerotic plaque and surrounding tissues and the dependence of microbial contamination of polymorphism 896A / G gene TLR4 (rs4986790), and to identify the possible relationship of atherosclerosis and Asp299Gly gene polymorphism TLR4 in patients with coronary heart disease (CHD). Materials and methods: The 31 autopsies of coronary arteries from patients who died from coronary arteries disease and 5 from healthy individuals. Results and discussions: The presence of periodontal pathogenic microorganisms in atherosclerotic plaques was observed in 83,9%. In 51,6% two or more species of microorganisms were found. Only in 11,1% samples with atherosclerotic plaques the microorganisms were found in undamaged tissues. The patients who died from coronary arteries disease had 299Gly allele of TLR4 gene more frequent than healthy individuals ($p=0,04$) OR 2,92 (1,15-7,41). The presence of TLR4 gene polymorphic allele G in the individual genotype determines the increased contamination of atherosclerotic plaque tissues by the representatives of the following genera: Lactobacillus sp., Enterobacterium sp., Sneathia sp. / Leptotrihia sp. / Fusobacterium sp., Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp., Peptostreptococcus sp. The emergence of new correlation pairs with participation of Lachnobacterium sp. / Corynebacterium sp. among the carriers of G allele has been revealed via the intragroup correlation analysis. Conclusion: The obtained results confirm the possible involvement of the represented groups of microorganisms in the pathogenesis of atherosclerosis and the role of the TLR4 gene polymorphic variant G in the increased microbial contamination of the coronary arteries tissues. The presence of 299Gly allele of TLR4 gene increases the risk of this disease.

Key words: periodontal pathogenic microorganisms, polymorphism, Toll-like receptor 4, atherosclerosis.

Recent studies have convincingly demonstrated that pathogenesis of atherosclerosis is based on a chronic inflammation that causes endothelial damage and formation of atherosclerotic plaques in the artery wall. Therefore, increased attention is paid to infectious agents as possible etiological factors of initiation and progression of atherogenesis [3, 7].

The concept of atherogenesis initiation through an interaction of endogenous and exogenous microbial ligands with Toll-like receptors (TLRs) gains an ever increasing importance. A genetic variability of TLR can determine differences in the susceptibility of organisms to bacteria and viruses as well as in the intensity of the inflammatory process [9].

The aim of the present study was to establish the presence of specific groups of microorganisms, including periodontal pathogens in the atherosclerotic plaque and surrounding tissues, investigate a dependence of microbial contamination on 896A / G gene TLR4 (rs4986790) polymorphism as well as to identify possible relationship of atherosclerosis and Asp299Gly polymorphism of the TLR4 gene in patients with ischemic heart disease (IHD).

Materials and methods

31 aseptically obtained autopsy tissue samples of coronary arteries from people who died of IHD were investigated. The controls were people who died of causes unrelated to IHD. The study was conducted with the per-

mission of the Commission on Bioethics of State Higher Educational Institution of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy".

DNA isolation from tissue lysates was performed with a DNA extraction kit for the biopsies "Helikopol" ("Litech", Moscow). The obtained DNA solutions were used for further qualitative detection of periodontal pathogens. A qualitative DNA determination of periodontal pathogenic microorganisms (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*) was performed with polymerase chain reaction (PCR). Specific plots of DNA were amplified with DNA amplifier "Tertsyk" ("DNA Technology", Moscow) using specific multiplex oligonucleotide primers from "MultyDent" kit ("Gentech", Russia). DNA identification was performed by electrophoresis in 2% agarose gels stained with ethidium bromide, followed by visualization under UV light and photography. The obtained DNA solution was used to further quantify the biota in the samples, performed with a multiplex PCR on a real-time detecting amplifier DT-322 ("DNA Technology", Moscow) using "Femoflor" kit ("DNA Technology"), which allows to determine such factors as the total bacterial mass and microorganisms/groups of microorganisms: *Lactobacillus* sp., *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* sp., *Eubacterium* sp., *Sneathia* sp. / *Leptotrihia* sp. /

* To cite this English version: Skochko O. V., Vesnina L. E., Bobrova N. O., Shlykova O. A., Mamontova T. V., Izmaylova O. V., Kaydashev I. P. Analysis of specific groups of microorganisms isolated from atherosclerotic coronary arteries of patients depending on Asp299Gly polymorphism of TLR4 gene // *Problemy ekologii ta medytsyny*. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 59-61.

Fusobacterium sp., Megasphaera sp. / Veillonella sp. / Dialister sp., Lachnobacterium sp. / Clostridium sp., Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp., Peptostreptococcus sp., Atopobium (At.) vaginae, Mycoplasma (M.) (genitalium + hominis), Ureaplasma (urealyticum + parvum), Candida sp. The polymorphic site of the Asp299Gly TLR4 gene was amplified by PCR using specific oligonucleotide primers.

Statistical analysis of the data was performed with a standard software package «STATISTICA 6.0» (StatSoft, Inc., USA). For data comparisons nonparametric methods were used: Wilcoxon test, t-test, intragroup correlations and covariances. Differences were considered statistically significant at $P < 0,05$. Comparison of genotype frequencies between the groups was performed by analysis of 3x2 combination tables with Fisher's exact test. To compare frequencies of variants in unrelated groups we calculated the odds ratio (OR) with 95% confidence interval (CI).

Results and discussion

According to the research goal we studied tissue samples of autopsy material of coronary arteries of 31 patients who died of IHD, and of 5 patients who died of other causes and did not have lesions of coronary arteries. An analysis of the 5 tissue samples of coronary arteries of the patients who died of causes unrelated to atherosclerosis showed no microorganisms in the vascular wall.

An analysis for presence of major parodontopathogenic microorganisms in the atherosclerosis plaque tissues of the coronary arteries revealed presence of at least one of the microorganisms in 26 of 31 patients, which comprised 83,9%. The most frequently found microorganisms were *P. gingivalis* - 64,5%, *T. denticola* - 41,9%, *A. actinomycetemcomitans* - 32,3%, while *B. forsythus* i *P. intermedia* were found less frequently - 12,9% i 6,5% respectively. Notably, presence of three microorganisms was found in 22,6% samples. The prevalent microbial associations were comprised of *P. gingivalis*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*.

In the next stage of our research we studied frequency of the Asp299Gly gene TLR4 among individuals of Poltava population ($n = 100$) and among the patients who died of IHD ($n = 31$). The distribution frequency of polymorphic variants of the TLR4 gene corresponded to the Hardy-Weinberg principle (Pearson χ^2 with Yates correction was 0,79 i 2,67 respectively). A comparison of genotype frequencies (Table 1) demonstrated a tendency to increased frequencies of the genotypes AG and GG in the group of patients who died of IHD ($p = 0,086$). We found the investigated groups of the microorganisms except *At. vaginae*, *M. hominis* and *M. genitalium* in all autopsy samples. We also observed that the allele G was significantly more frequently found ($p = 0,04$) in the subjects who died of IHD, the odds ratio was 2,92 (1,15-7,41) with 95% confidence interval.

Table 1
The distribution of genotypes and allele frequencies of gene polymorphisms TLR4 Asp299Gly among Poltava population died of coronary heart disease (CHD), % (n)

The gene, polymorphism	The frequency of genotype	Group population control (n=100)	Group deaths from coronary heart disease (n=31)	p*	The frequency of genotype	Group population control	Group deaths from coronary heart disease	χ^2 Pearson, df=1	RR (95% CI)	p**
TLR4 Asp299Gly	AA	90 (90)	77,42 (24)	0,086	A	94,5 (189)	85,5 (53)	4,25	2,92 (1,15-7,41)	0,04
	AG	9 (9)	16,13 (5)		G	5,5 (11)	14,5 (9)			
	GG	1 (1)	6,45 (2)							

p* - the level of significance obtained Fisher's exact test

p** - the level of significance of the resulting test χ^2

We found 15 with the genotype AA (Asp299Asp) gene TLR4, 3 - with the genotype AG and 2 - with the genotype GG in the biopsy material. Because of low frequency of the allele G, both AG and GG genotypes were combined into one group as carriers of the allele G.

According to the obtained results (Table 2) the carriers of the allele G had a significantly higher content of microbial DNA of the groups of *Lactobacillus* sp. - $4,20 \pm 0,62$ vs $3,01 \pm 0,14$ in the carriers of the allele A (AA) ($p < 0,05$), *Enterobacterium* sp. - $4,68 \pm 0,87$ vs $3,09 \pm 0,17$ ($p < 0,05$), *Sneathia* sp. / *Leptotrichia* sp. / *Fusobacterium* sp. - $3,47 \pm 0,60$ vs $1,78 \pm 0,16$ ($p < 0,05$), *Mobiluncus* sp. / *Corynebacterium* sp. - $3,06 \pm 0,46$ vs $2,18 \pm 0,10$ ($p < 0,05$), *Peptostreptococcus* sp. - $3,08 \pm 0,67$ vs $2,00 \pm 0,11$ ($p < 0,05$). To clarify the possible microbial associations and their relationship to the presence or absence of polymorphic variants of TLR4 intragroup correlations were investigated. Among the carriers of the allele A (AA genotype) positive significant ($p < 0,05$) correlations were found between the number of gene-equivalents of

the pairs: *Lactobacillus* sp. - *Enterobacterium* sp. (0,984877); *Lactobacillus* sp. - *Staphylococcus* sp. (0,781613); *Lactobacillus* sp. - *Eubacterium* sp. (0,554622); *Lactobacillus* sp. - *Mobiluncus* sp. / *Corynebacterium* sp. (0,773681); *Enterobacterium* sp. - *Staphylococcus* sp. (0,793504) i *Enterobacterium* sp. - *Mobiluncus* sp. / *Corynebacterium* sp. (0,771553); *Staphylococcus* sp. - *Eubacterium* sp. (0,697129) and *Staphylococcus* sp. - *Mobiluncus* sp. / *Corynebacterium* sp. (0,613646). Among the carriers of the allele G (genotypes AG and GG) statistically significant positive correlations were also observed, except for an absence of the pair *Lactobacillus* sp. - *Eubacterium* sp. and an emergence of a new pair: *Lachnobacterium* sp. / *Clostridium* sp. - *Lactobacillus* sp. (0,826326); *Lachnobacterium* sp. / *Clostridium* sp. - *Enterobacterium* sp. (0,854616); *Lachnobacterium* sp. / *Clostridium* sp. - *Staphylococcus* sp. (0,831228) i *Lachnobacterium* sp. / *Clostridium* sp. - *Mobiluncus* sp. / *Corynebacterium* sp. (0,909823).

Table 2
The number of gene-equivalent groups of microorganisms isolated from atherosclerotic altered coronary arteries of patients with different genotypes of the gene Toll-like receptor 4 (TLR4)

Genotype	Lactobacillus spp.	Enterobacteriaceae	Streptococcus spp.	Staphylococcus spp.	Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.	Eubacterium spp.	Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.	Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.	Lachnobacterium spp./Clostridium spp.	Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.	Peptostreptococcus spp.	Ureaplasma (urealyticum+parvum)	Candida spp.
AA (n=15)	3.01±0.14	3.09±0.17	2.38±0.11	2.44±0.13	2.82±0.19	2.84±0.26	1.78±0.16	2.08±0.21	3.48±1.06	2.18±0.10	2.00±0.11	1.74±0.13	3.03±0.05
AG+GG (n=5)	4.20±0.62*	4.68±0.87*	2.96±0.33	3.18±0.64	3.50±0.71	3.24±0.45	3.47±0.60*	2.7±0.45	2.9±0.36	3.06±0.46*	3.08±0.67*	1.76±0.10	3.14±0.10

Note: * - the significance of differences between genotypes $p < 0,05$.

Our data on the presence of microbial DNA in tissues of atherosclerotic plaques is confirmed in studies by other authors. Previously, we have obtained evidence that TLR4 Asp299Gly gene polymorphism determines the possibility of infection with the most common urogenital infections [1], rheumatoid arthritis [2]. It was reported that an analysis of 454 tissue samples of atherosclerotic plaques as well as samples of aortic and intestinal microbiota revealed presence of Chryseomonas in all samples and that of Veillonella and Streptococcus in most plaque samples (which correlated with their presence in the mouth) [6]. It was shown that P. gingivalis plays an important role in aortic intimal hyperplasia in patients with periodontitis [5]. Our data of increased contamination of atherosclerotic tissue by microorganisms in patients with polymorphic allele TLR4 Gly 299 can be explained by a reduced signal transmission ability of this receptor form, caused in particular by Gram-negative bacteria [4]. These findings support a possible involvement of these groups of microorganisms in the pathogenesis of atherosclerosis and the role of a polymorphic variant of the allele G of the TLR4 gene in an increase of microbial contamination of coronary artery tissues. The presence of a polymorphic variant of the allele G of the TLR4 gene in the genotype of individuals with atherosclerotic coronary arteries determines an increased contamination of the atherosclerotic plaque tissue by the following microorganisms: Lactobacillus sp., Enterobacterium sp., Sneathia sp. / Leptotrichia sp. / Fusobacterium sp., Mobiluncus sp. / Corynebacterium sp., Peptostreptococcus sp.

Conclusions

Thus, from our findings we can conclude that a polymorphism of the TLR4 gene is of importance in the pathogenesis of coronary atherosclerosis and development of IHD. The risk of developing IHD is 2,92 bigger in the individuals who carry the allele 299Gly compared to those with the allele 299Asp. Therefore, it is necessary to continue research of the TLR4 gene polymorphism for a more detailed understanding of the genetic structure of susceptibility to IHD, which will bring us closer to understanding the mechanisms of interaction between a genetic variation of TLR and initiation of atherogenesis. At

the same time, some microorganisms, including periodontal pathogens P. gingivalis, T. denticola, A. actinomycetemcomitans, B. forsythus and P. intermedia may also play an important role in the pathogenesis of IHD. It evokes a need to further study the subject further as well as identify the infection sources, their elimination and finding new effective schemes of possible use of antibiotics in the treatment of IHD.

References

- Kaydashev I.P. Zv'yazok polimorfizmiv geniv TLR2 ta TLR4 zi schi-l'nistyu do okremich urogenital'nych infekzij / I.P. Kaydashev O.V. Izmaylova, O.A. Shlikova, N.O. Bobrova // Zitolohiya i genetika – 2011 – Vol.4. – P. 29 – 35.
- Beloglazova K.V. Polimorfizm gena Toll-like receptora 4 Asp299Gly u bol'nykh revmatoidnym artritom / K.V. Beloglazova, O.A. Shlykova, O.V. Izmaylova, I.P. Kaydashev // Problemi ekol. ta med. – 2009. – Vol.13(5-6). – P. 15-17.
- Alviar C. L. Infectious atherosclerosis: is the hypothesis still alive? A clinically based approach to the dilemma / C. L. Alviar, J. G. Echevezzi, N. I. Jaramillo [et al] // Med. Hypothesis – 2011. – Vol. 76, N 4. – P. 517–522.
- Balistreri C. R. Role of TLR4 polymorphisms in inflammatory responses: implications for unsuccessful aging / C. R. Balistreri, G. Candore, F. Listi. [et al] // Ann. NY Acad. Sci. – 2007. – Vol. 11. – P. 11–19.
- Hokamura K., Umemura K. Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases – from molecular mechanisms to clinical cases: Porphyromonas gingivalis is the important role of intimal hyperplasia in aorta // J. Pharmacol. Sci. – 2010. – Vol. 113, N 2. – P. 110–114
- Koren O. Human oral, gut and plaque microbiota in patients with atherosclerosis / O. Koren, A. Spor., J. Felin [et al] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. – Vol. 108, N 1. – P. 4592–4598.
- Kurano M., Tsukamoto K. Etiology of atherosclerosis – special reference to bacterial infection and viral infection // Nihon Rinsho. – 2011. – Vol. 69, N 1. – P. 25–29.
- Liadaki K. Toll-like receptor 4 gene (TLR4), but not TLR2, polymorphisms modify the risk of tonsillar disease due to Streptococcus pyogenes and Haemophilus influenzae / K. Liadaki, E. Petinaki, C. Skoulakis [et al] // Clin. Vaccine Immunol. – 2011. – Vol. 18, N 2. – P. 217–222.
- Montes A.H. The Toll-like receptor 4 (Asp299Gly) polymorphism is a risk factor for Gram-negative and haematogenous osteomyelitis / A.H. Montes, V. Asensi, V. Alvarez. [et al] // Clin. Exp. Immunol. – 2006. – Vol.143, N3. – P. 404-413.

Матеріал надійшов до редакції 12.09.2013 р.

ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

© Кириченко Т.С.

УДК[616.36-002:616.98]- 085.281

ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИЕПІДЕМІЧНИХ ЗАХОДІВ ПРИ ВІЛ-ІНФЕКЦІЇ В ПОЛТАВСЬКІЙ ОБЛАСТІ НА СУЧАСНОМУ ЕТАПІ*

Кириченко Т.С.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»

Полтавський обласний центр профілактики ВІЛ-інфекції та боротьби зі СНІДом

В Полтавской области наблюдается постоянный рост показателей заболеваемости ВИЧ - инфекцией (с 6,8 на 100 тыс. населения в 2002 г. до 31,2 на 100 тыс. населения в 2011г.), который происходит на фоне изменения структуры впервые выявленных случаев ВИЧ с преобладанием лиц, не относящихся к группам риска (с 48,6 % в 2005г. до 57,3 % в 2011 г.). В Полтавской области произошло изменение путей передачи ВИЧ с преобладанием полового (47,2 %) , что, наряду с большим количеством ВИЧ - инфицированных в области, не находящихся на диспансерном учете - 2202 (41,8 %), представляет собой реальную угрозу распространения ВИЧ среди населения. Преобладание полового пути передачи ВИЧ - инфекции ставит вопрос об обязательном обеспечении доступа для обследования на ВИЧ всех желающих. На современном этапе санитарно - просветительскую работу по профилактике ВИЧ следует направить на общие слои населения, прежде всего молодежь, с осознанием ими личного риска инфицирования ВИЧ.

Ключевые слова: эпидемиологические характеристики, пути передачи, новые случаи ВИЧ - инфекции

ВІЛ-інфекція продовжує посідати провідне місце серед проблем охорони здоров'я багатьох країн світу[5,6]. Епідемія ВІЛ-інфекції в Україні є однією з найтяжчих серед країн Східної Європи та Співдружності Незалежних Держав[1-3]. Сучасний стан розвитку епідемічного процесу ВІЛ-інфекції в Україні характеризується широким поширенням ВІЛ серед різних контингентів населення, в першу чергу серед осіб, які відносяться до груп високого ризику інфікування; нерівномірним поширенням ВІЛ-інфекції по різних територіях України; зміною домінуючих шляхів передачі ВІЛ; переважним ураженням осіб працездатного віку[1-5].

Потребує подальшого вивчення питання щодо дійсної інтенсивності епідемічного процесу ВІЛ-інфекції в Полтавській області в сучасних умовах, частоти реалізації різних шляхів передачі збудника, територіальних особливостей поширення інфекції тощо.

Мета – проаналізувати епідеміологічні характеристики ВІЛ-інфекції в Полтавській області в динаміці і на основі отриманих даних запропонувати шляхи підвищення ефективності протиепідемічних заходів.

Матеріали і методи дослідження

Матеріалами для вивчення багаторічної динаміки, тенденцій розвитку та основних рушійних сил епідемічного процесу ВІЛ-інфекції в Полтавській області були дані річних звітних статистичних форм МОЗ України, Полтавського обласного центру профілактики ВІЛ-інфекції та боротьби зі СНІДом: форма звітності № 2 - ВІЛ/СНІД "Звіт про осіб із станами та хворобами, що зумовлені вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ) (річна) й форми первинної облікової документації: №502-1/о "Реєстраційна карта ВІЛ-інфікованої особи"; № 502-2/о "Повідомлення про зміни в Реєстраційній карті ВІЛ-інфікованої особи"; № 025/о — "Медична карта амбулаторного хворого". Кількісні виміри змін в епідемічному процесі оцінювали шляхом обчислення показника середнього темпу приросту/зниження захворюваності — процентного відношення між абсолютним приростом показника даного періоду та абсолютним рівнем попереднього періоду за 2002 - 2011рр. Статистичний аналіз і розрахунки проводили за допомогою уніфікованих функцій, що передбачені програмою Microsoft Office Excel 2003.

* Цитування при атестації кадрів: Кириченко Т.С. Шляхи підвищення ефективності протиепідемічних заходів при ВІЛ-інфекції в Полтавській області на сучасному етапі // Проблеми екології і медицини. – 2013. – Т. 17, № 3-4. – С. 62 –65.

Результати та їх обговорення

Аналіз динаміки захворюваності на ВІЛ-інфекцію за 2002-2011 рр. показав, що епідемічний процес в Полтавській області характеризувався високою інтенсивністю: у 2011 р. зареєстровані найвищі показники захворюваності на ВІЛ-інфекцію – 31,2 на 100 тис. населення, захворюваності на СНІД – 21,1 на 100 тис. населення та смертності від СНІД – 8,2 на 100 тис. населення. Найвищі показники захворюваності на ВІЛ-інфекцію в 2011р. реєструвалися в місті Полтаві (53,8 на 100 тис. населення), Гребінківському (85,3 на 100 тис. населення), Диканському (50,6 на 100 тис. населення), Чутівському (49,7 на 100 тис. населення), Полтавському (44,8 на 100 тис. населення) районах та перевищували дані по області й Україні в цілому. Привертав увагу той факт, що рівень захворюваності на ВІЛ-інфекцію у м. Полтаві протягом 2002-2011 рр. виявлявся високим – із середньорічним показником 49,4 на 100 тис. населення, що перевищувало дані по Україні та Полтавській області в 1,7 і 2,7 рази відповідно. Середньорічні показники захворюваності в містах Кременчуці та Комсомольську утримались нижче загальнодержавних та обласних і склали 15,7 і 11,5 на 100 тис. населення відповідно.

Показник охоплення диспансеризацією ВІЛ-позитивних осіб протягом 2002 – 2011 рр. в Полтавській області зростав – з 56,4% у 2002 р. до 67,6% у 2011р., що співпадало з даними по Україні (54,5% і 62,7% відповідно рокам). Але 2202 осіб (41,8%) виявлених сероепідеміологічним моніторингом, не перебували під диспансерним наглядом у закладах охорони здоров'я з різних причин (не звернулися за результатами тестування, не бажали пройти медичне обстеження тощо) та залишалися джерелами збудника інфекції, що призводить до подальшого поширення ВІЛ [1-4].

Показник поширеності ВІЛ-інфекції (число зареєстрованих ВІЛ-інфікованих осіб, які перебували під диспансерним наглядом в лікувально-профілактичних закладах Полтавської області) станом на 01.01.12 становив 158,9 на 100 тис. населення, по Україні – 264,3 на 100 тис. населення[1]. Проведений аналіз показав, що найвищі рівні поширеності ВІЛ-інфекції та СНІДу зареєстровані в м. Полтава (333,4 на 100 тис. населення та 70,2 тис. населення), Диканському (273,2 на 100 тис. населення та 40,5 на 100 тис. населення), Гребінківському (268,8 на 100 тис. населення та 42,4 на 100 тис. населення), Полтавському (234,3 на 100 тис. населення та 47,7 на 100 тис. населення), Пирятинському (223,1 на 100 тис. населення та 39,2 на 100 тис. населення), Чутівському (165,8 на 100 тис. населення та 24,9 на 100 тис. населення), Н.Санжарському (144,1 на 100 тис. населення та 13,9 на 100 тис. населення) районах та м. Кременчуці (104,4 на 100 тис. населення та 20,8 на 100 тис. населення).

Аналіз кількості нових випадків ВІЛ-інфекції показав, що починаючи з 2007 р. в Полтавській області спостерігалось зменшення темпів приросту захворюваності на ВІЛ-інфекцію, що можна розцінити як початок позитивних змін в епідемічній ситуації. Так, кількість нових випадків ВІЛ-інфекції у 2003 р., в порівнянні з 2002 р., зросла на 34,5 %, а в 2005 р., в порівнянні з попереднім роком, рівень приросту склав 113,2 %, що пояснюється зростанням кількості тестувань на наявність антитіл до ВІЛ з профілактичною метою в Полтавській області та максимальним вияв-

ленням ВІЛ-інфікованих під час проведених обстежень. Завдяки реалізації комплексу заходів, спрямованих на призупинення епідемії ВІЛ-інфекції, зокрема серед споживачів ін'єкційних наркотиків (СІН), темп приросту захворюваності на ВІЛ по Полтавській області в 2006 р., у порівнянні з попереднім 2005 р., знизився на – 2,7%. Суттєвий вплив на зменшення темпу приросту показника захворюваності на ВІЛ-інфекцію в Полтавській області відіграло максимальне охоплення антиретровірусною терапією (АРТ) ВІЛ-інфікованих у 2007 та 2009 рр. Так, якщо в 2007 р. у порівнянні з попереднім, 2006 р., показник захворюваності на ВІЛ-інфекцію в цілому по Полтавській області зріс на 33,3%, то в 2008 р., у порівнянні з 2007 р., – зменшився на -1,6%. У 2009 р. в порівнянні з попереднім, 2008 р., показник захворюваності на ВІЛ-інфекцію зріс на 9,6%, а в 2010 р., у порівнянні з 2009 р., – зменшився на 1,2%. Недостатнє охоплення АРТ всіх потребуючих Полтавської області в 2010 р. зумовило зростання темпів приросту захворюваності на ВІЛ-інфекцію в 2011 р. на 13,3%. По Україні, починаючи з 2002 р., темп приросту захворюваності на ВІЛ-інфекцію невинно знижувався і досяг 3,6% у 2011р.

Впровадження АРТ позитивно позначилося як на зниженні темпу приросту захворюваності на ВІЛ-інфекцію, так і на зниженні рівня захворюваності на СНІД (від + 200% у 2004 р. до - 10% у 2007 р. в Полтавській області та від + 45% у 2004 р. до - 3% у 2007 р. по Україні) та темпі приросту смертності від захворювань, обумовлених СНІДом (від + 150 % у 2004 р., до + 7,5% у 2007 р. в Полтавській області та від + 40,7% у 2004 р., до + 3,8% у 2007 р. по Україні).

Аналіз даних епідеміологічного анамнезу показав, що протягом 2002-2011 рр. в Полтавській області відбулася зміна домінуючих шляхів передачі ВІЛ. Так, у 2002-2007 рр. основним шляхом передачі ВІЛ визначався парентеральний, переважно при введенні наркотичних речовин ін'єкційним шляхом – 58%. У 2008 р. частота статевого (38,6%) та парентерального (40,5%) шляхів практично зрівнялися, а в 2009р. відбулася зміна шляхів передачі ВІЛ із переважанням частки статевого - 42,1% (парентеральний - 39,4%). У 2010-2011 рр. продовжувалося зростання (47,2% і 44,6% відповідно рокам) частки осіб, які інфікувалися статевим шляхом, та зменшення – інфікованих при введенні наркотичних речовин ін'єкційним шляхом (34,4% і 33,2% відповідно рокам), що співпадало з даними по Україні (статевий шлях – 44,6% та 49%, парентеральний – 33,8% та 31% відповідно рокам). Активізація статевого шляху передачі вказує на перехід епідемічного процесу із середовища СІН в інші прошарки населення та прогнозує погіршення епідемічної ситуації щодо ВІЛ-інфекції в найближчі роки. Сумісний потужний вплив статевого та парентерального шляхів передачі може призвести до більш масового поширення ВІЛ-інфекції [1-3].

Зміни, що відбулися в шляхах інфікування ВІЛ, знайшли своє відображення й у віковій структурі захворюваності на ВІЛ-інфекцію. Так, проведений аналіз показав, що протягом 2002-2011 рр. серед дорослого населення Полтавської області зменшилась кількість інфікованих у вікових групах 15-19 (з 7% у 2002 до 0% у 2011 рр.) та 20-29 роки (з 54% у 2002 до 23% у 2011 рр.) та збільшилась у вікових групах 30-39 (з 17% у 2002 до 36% у 2011 рр.), 40-49 років (з 7% у 2002 до 14% у 2011 рр.) та старше 50 років (з 0% у 2002 до 5% у 2011 рр.). Кількість ВІЛ-інфікованих у

віковій групі 0-14 років залишилися сталою і склали 22%. У віковій структурі нових випадків ВІЛ-інфекції серед жителів України також переважали особи віком 30 – 49 років, частка яких поступово зростала з 62,8% у 2002 до 66,3% у 2011 рр.). Разом з тим, в останні роки в Україні також спостерігалось зниження частки випадків захворювань на ВІЛ-інфекцію у віковій групі 15 – 29 років серед усіх уперше зареєстрованих випадків ВІЛ-інфекції (з 15% у 2002 до 9% у 2011 рр.), що може свідчити про деякі ознаки стабілізації епідемічної ситуації з ВІЛ-інфекції в цілому через зміну поведінки молоді на менш ризиковану.

Під час аналізу гендерної структури ВІЛ-інфікованих хворих Полтавської області протягом 2002-2011 рр. встановлено, що серед інфікованих переважали чоловіки – 58-53%, що співпадало з даними по Україні (58,4-54,5% відповідно).

Зміна шляхів передачі ВІЛ з перевагою статевих над парентеральним знайшла своє відображення в зміні частоти інфікованості ВІЛ різних контингентів обстежених. Так аналіз результатів сероепідеміологічного моніторингу показав, що протягом 2002 – 2011 рр. в Полтавській області спостерігалось зниження рівня інфікованості ВІЛ серед СІН (з 15,89% у 2002 до 10,34% у 2011 рр.), тоді як рівень інфікованості статевих партнерів ВІЛ-інфікованих зростає (з 14,28% у 2002 до 22,95% у 2011 рр.). Отримані результати співпадали з даними по Україні, які також зареєстрували зменшення ВІЛ-інфікованості серед СІН (з 13,13% у 2002 до 11,39% у 2011 рр.) та зростання – серед ста-

тевих партнерів ВІЛ-позитивних осіб (з 12,43% у 2002 до 18,17% у 2011 рр.).

Вважається, що рівень інфікованості жінок, які відвідують жіночі консультації з приводу вагітності, та донорів достатньо точно відображають рівень інфікованості ВІЛ і тенденції розвитку епідемії серед загального населення. Крім того, група вагітних жінок становить вибірку, яка є репрезентативною для аналізу епідемічної ситуації серед сексуально активної жіночої частини населення [1]. Ми звернули увагу на те, що рівень інфікованості ВІЛ вагітних та донорів Полтавської області протягом 2002-2011 рр. визначався стабільним – 0,15% - 0,10%. Закономірно постало питання про з'ясування реальної поширеності ВІЛ-інфекції серед благополучного прошарку населення. З цією метою був проведений аналіз нових випадків інфікування ВІЛ по роках.

З'ясувалося, що протягом 2002-2011 рр. змінилася структура виявлених випадків ВІЛ-інфекції з переважанням в ній осіб, обстежених за власним бажанням, в виправних колоніях та за клінічними показаннями зі зменшенням частки СІН, донорів та вагітних (рис.1).

Так, проведений аналіз показав, що протягом 2002-2011 рр. серед всіх виявлених ВІЛ-позитивних осіб втричі зменшились частки СІН (з 23,4% у 2002 до 7,6% у 2011 рр.), донорів (з 14,3% у 2002 до 4,8% у 2011 рр.), вагітних (з 24,6% у 2002 до 8,9% у 2011 рр.) та збільшилися вдвічі серед статевих партнерів ВІЛ-інфікованих (з 2,3% у 2002 до 5,0% у 2011 рр.) та в 39 разів серед осіб, які знаходились в місцях відбування покарань (з 0,6% у 2002 до 23,9% у 2011 рр.).

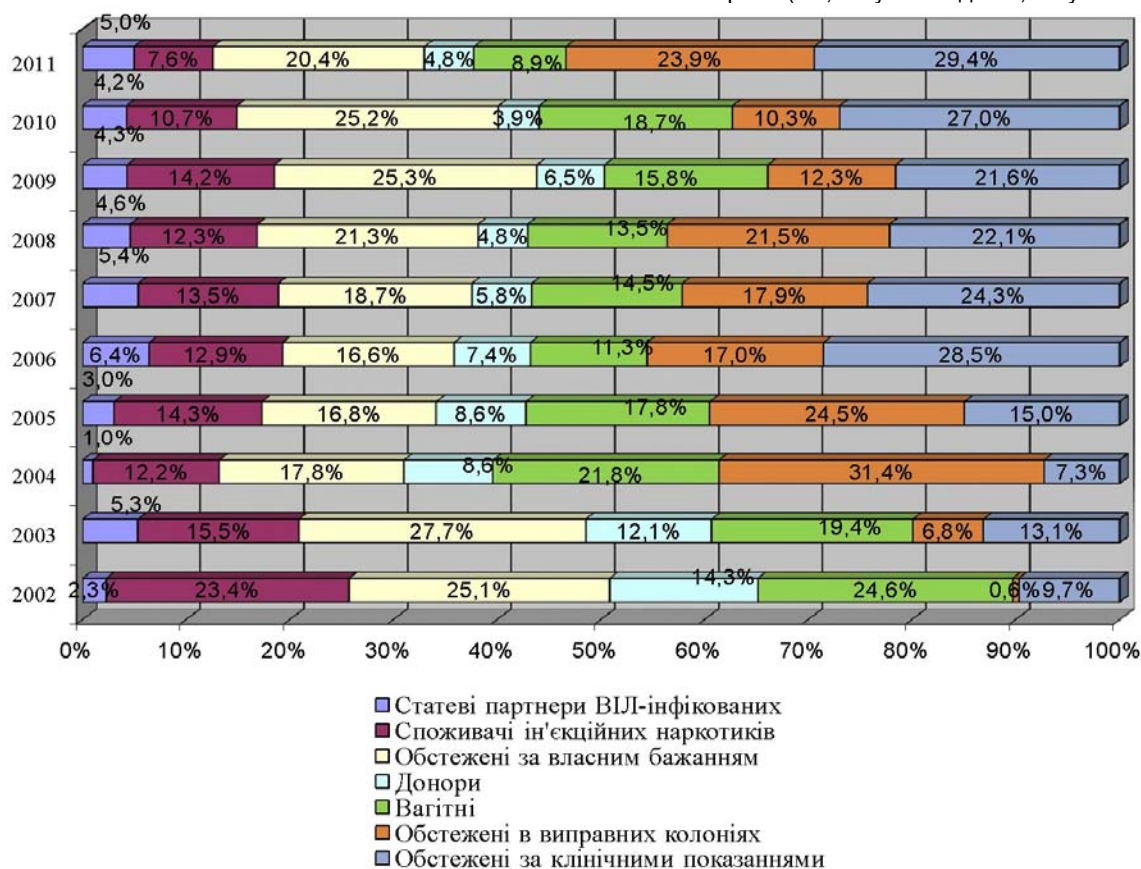


Рис. 1. Структура виявлених випадків ВІЛ-інфекції в Полтавській області (2002-2011 рр.), абс. (%).

Привертало увагу стрімке зростання частки осіб, обстежених за клінічними показаннями – з 9,7% в 2002 до 29,4% в 2011 рр., що свідчить про наявність

проблем із своєчасним виявленням ВІЛ-інфекції на ранніх стадіях та призводить до ускладнення можливостей призначення АРТ цій категорії хворих. Слід за-

значити, що незмінною і вагомою залишилась частка осіб, обстежених за власним бажанням (анонімно, профілактично та при отриманні довідок), яка склала четверту частину (25%) всіх виявлених випадків ВІЛ-інфекції. При цьому кількість ВІЛ-інфікованих, виявлених анонімно зменшилась з 22,6% у 2002 до 5,1% у 2011 рр., а осіб, обстежених для отримання довідок про свій ВІЛ-статус або з профілактичною метою зросла з 10,4% у 2005 до 16,3% у 2010 рр. Загалом частка ВІЛ-інфікованих осіб, які не відносяться до груп ризику в Полтавській області, зросла з 33,3 % у 2005р. до 57,3% у 2011 р. (рис.2).

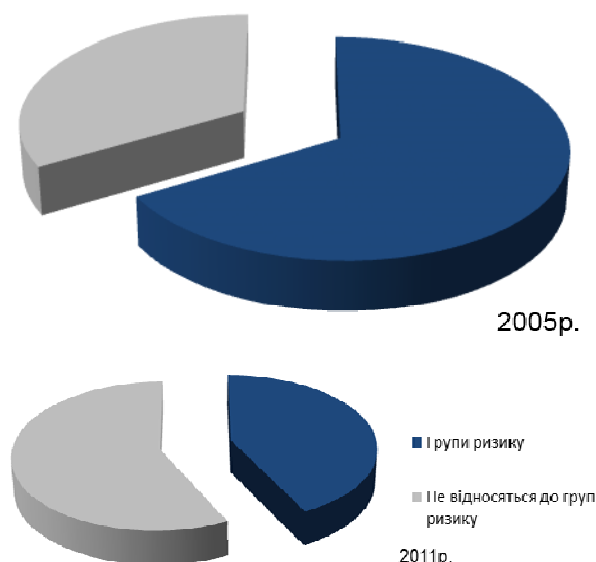


Рис. 2. Структура виявлених випадків ВІЛ-інфекції в Полтавській області серед населення.

Отримані дані підтверджують негативні тенденції щодо поширення ВІЛ серед населення в зв'язку з переважанням статевого шляху передачі ВІЛ-інфекції.

Важливо, що в останні роки практика тестування, що існує в Україні, передбачає обстеження донорів та вагітних на тест-системах, закуплених за рахунок державного бюджету, а решти населення – на тест-системах, закуплених за кошти місцевих бюджетів. Полтавська область відноситься до областей з найменшим відсотком тестувань за рахунок місцевих бюджетів від загальної кількості тестувань, що відображається на недостатньому охопленні тестуванням на

ВІЛ-інфекцію всіх бажаючих в області [1]. Це питання потребує вирішення.

Таким чином, в Полтавській області змінилася структура виявлених випадків ВІЛ-інфекції з переважанням в ній осіб, які не відносяться до груп ризику. Вищезазначене ставить питання про обов'язкове забезпечення доступу для обстеження на ВІЛ всіх бажаючих, що дасть можливість з'ясувати реальну поширеність ВІЛ-інфекції серед населення в цілому.

Отже, отримані дані дозволили зробити наступні висновки:

1. У Полтавській області спостерігається постійне зростання показників захворюваності на ВІЛ-інфекцію (з 6,8 на 100 тис. населення у 2002 р. до 31,2 на 100 тис. населення у 2011р.), яке відбувається на фоні зміни структури вперше виявлених випадків ВІЛ з переважанням осіб, які не належать до груп ризику (з 48,6% у 2005р. до 57,3% у 2011 р.).

2. В Полтавській області відбулася зміна шляхів передачі ВІЛ з переважанням статевого (47,2%), що, поряд зі значною кількістю ВІЛ-інфікованих в області, які не знаходяться на Д обліку – 2202 (41,8%), являє собою реальну загрозу поширення ВІЛ серед населення.

3. Переважання статевого шляху передачі ВІЛ-інфекції ставить питання про обов'язкове забезпечення доступу для обстеження на ВІЛ всіх бажаючих.

4. На сучасному етапі санітарно-просвітницьку роботу щодо профілактики ВІЛ слід спрямувати на загальні верстви населення, перед усім молодь, з усвідомленням ними особистого ризику інфікування ВІЛ.

Література

1. ВІЛ-інфекція в Україні: інформаційний бюлетень № 37. — К., 2012. — 82 с.
2. ВІЛ-інфекція в Україні: інформаційний бюлетень № 35. — К., 2011. — 64 с.
3. ВІЛ-інфекція в Україні: інформаційний бюлетень № 38. — К., 2012. — 21 с.
4. Епідеміологічна характеристика ВІЛ/СНІДу у Полтавській області на сучасному етапі / Г. М. Дубинська, В. Ф. Шаповал, Т. І. Коваль та ін. // Епідеміологія, гігієна, інфекційні хвороби. - 2011. - № 2. - С. 34-38.
5. Запорожан В.М. ВІЛ-інфекція і СНІД. — К. : Здоров'я, 2003. — 624 с.
6. Малий В. П. ВИЧ-инфекция/СПИД. — М. : Эксмо, 2009. — 672с.

English version: THE WAYS TO INCREASE THE EFFECTIVENESS OF ANTIEPIDEMIC MEASURES IN CASE OF HIV-INFECTION IN POLTAVA REGION AT THE PRESENT STAGE *

Kyrychenko T.S.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy"

Poltava Regional HIV/AIDS Prevention and Control Center

There is a stable increase of HIV-infection morbidity indices (from 6,8 per 100,00 people in 2002 till 31,2 per 100,00 people in 2011); it takes place on the ground of changes concerning the structure of firstly diagnosed HIV cases with the predominance of persons beyond the risk groups (from 48,6% in 2005 till 57,3% in 2011). There has been the change in HIV transmission raises the predominance of sexual way (47,2%) that is the real threat of HIV spreading among population in addition to the great number of HIV infected persons in the region beyond the dispensary registration – 2202 (41,8%). The predominance of HIV sexual transmission begs the question of providing compulsory access to HIV examination for all comers. Nowadays it is necessary to direct sanitary and educational actions concerning HIV prevention towards the common layers of population, mainly the young people with their awareness of HIV infecting personal risk.

Key words: epidemiological characteristics, ways of transmission, new cases of HIV-infection

HIV-infection continues occupying the leading place among the healthcare problems of many countries in the world [5,6]. HIV-infection epidemic in Ukraine is one of the serious among the countries of East Europe and the Commonwealth of Independent States [1-3]. The modern condition of HIV-infection epidemic process development in Ukraine is characterized by wide HIV distribution among different contingents of population, first of all among persons of high risk groups; uneven distribution of HIV-infection via different Ukraine territories; the alteration of dominant ways of HIV transmission; the predominant lesion of working-age population [1-5].

The present problem concerning the real intensity of HIV-infection epidemic process in Poltava region as well as the implementation frequency of agent transmission different ways, area peculiarities of infection distribution etc. requires further inquiry.

The objective is to analyze HIV-infection epidemiological characteristics in Poltava region in dynamics and on the obtained results basis to suggest the ways of antiepidemic measures effectiveness increase.

Materials and methods

The materials to study long-term dynamics, progress trends and the basic motive forces of HIV-infection epidemic process in Poltava region have been the data of annual report statistical forms of the Ministry of Public Health of Ukraine and Poltava Regional HIV/AIDS Prevention and Control Center: reporting form №2 i.e. HIV/AIDS "Report about persons with the states and illnesses caused by the human immunodeficiency virus (HIV)" (annual) and the forms of primary reporting documentation: №502-1/o "Registration card of HIV-infected person"; №502-2/o "Report about changes in the Registration card of HIV-infected person"; № 025/o "Medical card of ambulant case".

The quantitative measurements of alterations in epidemic process have been estimated by calculating the index of average rate of morbidity growth/decrease – percentage ratio between the absolute index growth

within the current period and the absolute level within the previous one from 2002 till 2011. The statistical analysis and calculations have been carried out by the unified functions provided by Microsoft Office Excel 2003.

Results and discussion

The analysis of HIV-infection morbidity dynamics from 2002 till 2011 has shown the high intensity of epidemic process in Poltava region: the highest indices of HIV-infection morbidity have been registered in 2011 – 31,2 per 100,000 people, AIDS morbidity – 21,1 per 100,00 people and AIDS mortality – 8,2 per 100,000 people.

In 2011 the highest indices of HIV-infection morbidity have been registered in Poltava city (53,8 per 100,00 people), Hrebinka district (85,3 per 100,00 people), Dykanka district (50,6 per 100,00 people), Chutovo district (49,7 per 100,00 people), Poltava district (44,8 per 100,00 people) and exceeded data throughout the region and Ukraine in whole.

It should be noticed that the level of HIV-infection morbidity in Poltava city within 2002-2011 was rather high with average index 49,4 per 100,00 people; it exceeded the data throughout Ukraine and Poltava region 1,7 and 2,7 up accordingly. The average annual morbidity indices in Kremenchuk and Komsomolsk towns stayed below the state and regional ones and were 15,7 and 11,5 per 100,00 people accordingly. The index of HIV-positive persons dispensary examination coverage within 2002-2011 in Poltava region increased from 56,4% in 2002 till 67,6% in 2011; it coincided with the data throughout Ukraine (54,5% and 62,7% according to the years). But 2202 persons (41,8%) revealed by sero-epidemiological monitoring were not under health care supervision for different reasons (refused to refer the testing results or medical examination etc.) and remained the sources of infection agent resulting to further HIV spreading [1-4].

The index of HIV-infection distribution (the number of registered HIV-infected persons under dispensary supervision in medical-prophylactic institutions of Poltava re-

* To cite this English version: Kyrychenko T.S. The present stage ways to increase the effectiveness of antiepidemic measures in case of HIV-infection in Poltava region // *Problemy ekologii ta medytsyny*. - 2013. - Vol 17, № 3-4. - P. 66 -69.

gion) made up 158,9 per 100,00 people, and it was 264,3 per 100,00 people throughout Ukraine for 01.01.2012 [1]. The conducted analysis has shown that the highest levels of HIV-infection and AIDS distribution have been registered in Poltava city (333,4 per 100,00 people and 70,2 per 100,00 people), Dykanka district (273,2 per 100,00 people and 40,5 per 100,00 people), Hrebinka district (268,8 per 100,00 people and 42,4 per 100,00 people), Poltava district (234,3 per 100,00 people and 47,7 per 100,00 people), Pyryatyn district (223,1 per 100,00 people and 39,2 per 100,00 people), Chutovo district (165,8 per 100,00 people and 24,9 per 100,00 people), Novi Sanzhary district (144,1 per 100,00 people and 13,9 per 100,00 people) and Kremenchuk town (104,4 per 100,00 people and 20,8 per 100,00 people).

The analysis of HIV-infection new cases number has shown that there was a decrease of HIV-infection morbidity growth rate in Poltava region starting from 2007 that can be regarded as the beginning of positive changes in epidemic situation. Thus, the number of HIV-infection new cases increased by 34,5% in 2003 compared with 2002, and in 2005 the growth level comprised 113,2 % compared with the previous year; it can be explained by the increased number of preventive tests to reveal antibodies to HIV in Poltava region and highest possible detection of HIV-infected persons during the conducted examinations. Due to implementation of complex measures directed towards the HIV-infection epidemic cessation, in particular among the injecting drug users (IDUs), the HIV morbidity growth rate decreased by 2,7% throughout Poltava region in 2006 compared with the previous 2005. Maximal antiretroviral therapy (ARV) coverage of HIV-infected in 2007 and 2009 effectively influenced the decrease of HIV-infection morbidity index growth rate in Poltava region. Thus, if HIV-infection morbidity index increased by 33,3% throughout Poltava region in whole in 2007 compared with the previous 2006, this index decreased by -1,6% in 2008 compared with 2007. HIV-infection morbidity index increased by 9,6% in 2009 compared with the previous 2008, and it decreased by 1,2% in 2010 compared with 2009. Insufficient ARV coverage of all needy persons of Poltava region in 2010 caused the increase of HIV-infection morbidity index growth rate by 13,3 % in 2011. HIV-infection morbidity growth rate steadily decreased and reached 3,6 % in 2011 throughout Ukraine.

ARV implementation positively influenced the decrease of HIV-infection morbidity growth rate as well as the decrease of AIDS morbidity level (from + 200% in 2004 p. till - 10% in 2007 in Poltava region and from + 45% in 2004 till - 3% in 2007 throughout Ukraine) and mortality growth rate from AIDS caused diseases (from + 150 % in 2004 till + 7,5% in 2007 in Poltava region and from +40,7% in 2004 till + 3,8% in 2007 throughout Ukraine).

The analysis of epidemiological anamnesis data has shown that the predominant HIV transmission ways have changed during 2002-2011 in Poltava region. Thus, in 2002-2007 the main way of HIV transmission was the parenteral one, mainly during drugs injection – 58%. In 2008 the frequency of sexual (38,6%) and parenteral (40,5%) ways was almost equal, and in 2009 there was a change of HIV transmission ways with the prevalence of sexual fraction - 42,1% (parenteral - 39,4%). There was an increase of persons infected by sexual transmission fraction within 2010-2011 (47,2% and 44,6% accordingly) and decrease of persons infected by injecting drugs

(34,4% and 33,2% accordingly) that corresponded to the reported data throughout Ukraine (sexual transmission – 44,6% and 49%, parenteral – 33,8% and 31% accordingly). The promotion of sexual transmission marks the transition of epidemic process from IDUs environment into other segments of the population and predicts aggravation of HIV-infection epidemic situation in the near future. Adjacent powerful effect of sexual and parenteral transmissions can cause HIV-infection mass distribution [1-3].

Changes concerning HIV transmission are reflected in age structure of HIV-infection morbidity. Thus, the conducted analysis has shown that within 2002-2011 the number of infected persons decreased in 15-19 age groups (from 7% in 2002 till 0% in 2011) and 20-29 years old (from 54% in 2002 till 23% in 2011) and increased in age groups 30-39 (from 17% in 2002 till 36% in 2011), 40-49 years old (from 7% in 2002 till 14% in 2011) and over 50 (from 0% in 2002 till 5% in 2011). The number of HIV-infected persons in age group 0-14 remained unchanged and comprised 22%. There was also the prevalence of persons aged 30-49 in age structure of HIV-infection new cases among the population of Ukraine and their fraction progressively increased from 62,8% in 2002 till 66,3% in 2011. At the same time there was a decrease of HIV-infection morbidity cases fraction in age group 15-29 among all firstly reported cases of HIV-infection (from 15% in 2002 till 9% in 2011) that can testify to some stabilization signs of HIV-infection epidemic situation in whole due to youth behavior has changed to be less risky.

The prevalence of males among HIV patients (58-53%) has been determined during gender structure analysis of Poltava region infected persons within 2002-2011 that corresponded to the reported data throughout Ukraine (58,4-54,5% accordingly).

The change of HIV transmission ways with the prevalence of sexual to parenteral has been reflected in the frequency change of HIV infected among different contingents of examined persons. Thus, the analysis of sero-epidemiological monitoring has shown that there was a decrease of HIV infecting level among the IDUs within 2002 – 2011 in Poltava region (from 15,89% in 2002 till 10,34% in 2011), whereas the infecting level of HIV sexual partners increased (from 14,28% in 2002 till 22,95% in 2011). The obtained results corresponded to the reported data throughout Ukraine, they also reported decrease of HIV infecting among IDUs (from 13,13% in 2002 till 11,39% in 2011) and decrease among sexual partners of HIV-positive individuals (from 12,43% in 2002 till 18,17% in 2011).

It is believed that the level of infecting females registered in maternity welfares concerning pregnancy as well as donors suffices it to reflect exactly the level of HIV infecting and tendencies of epidemic development among population. Besides the group of pregnant women comprises the selection representative for epidemic situation analysis among sexually active female part of population [1]. We paid attention to the fact that the infecting level of HIV pregnant women and donors of Poltava region was unchanged – 0,15% - 0,10% within 2002-2011. It logically begs the question of clarification HIV-infection real distribution among well-to-do population. With that end in view the analysis of HIV infecting new cases has been carried out year by year.

It has been found out that there were changes in the structure of the revealed HIV-infection cases within 2002-

2011 with the predominance of persons examined of their own free will, in penal colonies and according to clinical indications with the fraction decrease of IDUs, donors and pregnant (fig.1).

Thus, the conducted analysis has shown the triple decrease of IDUs fraction (from 23,4% in 2002 till 7,6% in 2011), donors (from 14,3% in 2002 till 4,8% in 2011),

pregnant (from 24,6% in 2002 till 8,9% in 2011) among all revealed HIV-positive individuals within 2002-2011 and twice increase among sexual partners of HIV-infected (from 2,3% in 2002 till 5,0% in 2011) and 39 increase among persons in completion of sentence places (from 0,6% in 2002 till 23,9% in 2011).

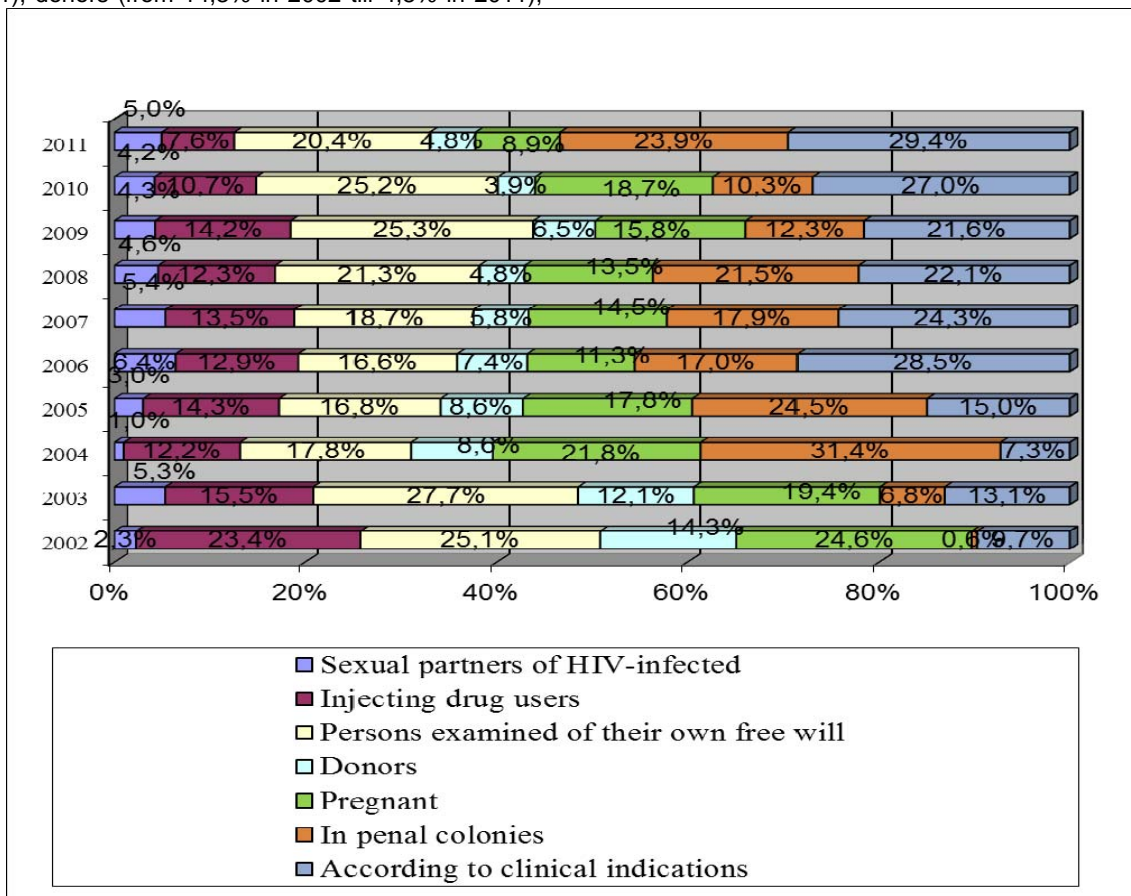


Fig.1. The structure of HIV-infection revealed cases in Poltava region (2002-2011), abs. (%).

Swift fraction increase of persons examined by clinical indications from 9,7% in 2002 till 29,4% in 2011 has noticed attention that testifies to the presence of problems with timely HIV-infection detection on early stages and causes complication of ARV indication possibility to this category of patients. It should be noted that the fraction of persons examined of their own free will (anonymous, preventively and while getting certificate) has remained unchanged and substantial, it made up the quarter (25%) of all revealed HIV-infection cases. At the same time the number of HIV-infected persons revealed anonymous decreased from 22,6% in 2002 till 5,1% in 2011, and the number of individuals examined to obtain the certificate about their HIV-status or with the aim of prevention increased from 10,4% in 2005 till 16,3% in 2010. The total fraction of HIV-infected persons beyond the risk group in Poltava region increased from 33,3 % in 2005 till 57,3% in 2011 (fig.2).

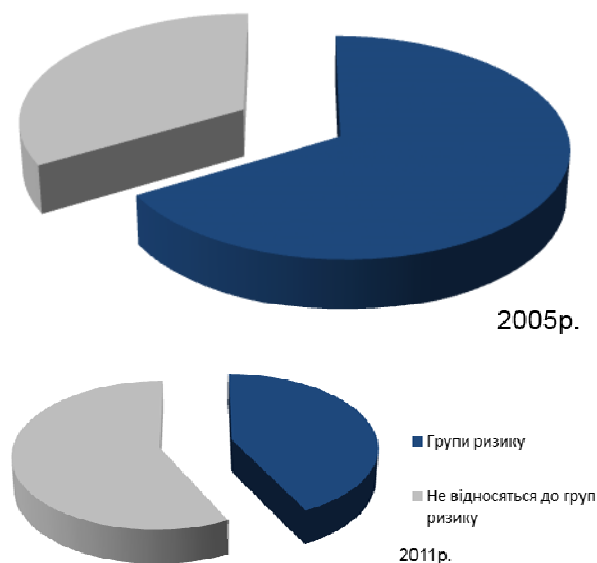


Fig.2. The structure of HIV-infection revealed cases in Poltava region among population.

The obtained data confirm negative tendencies concerning HIV spreading among population due to the predominance of HIV sexual transmission.

It is important to notice the fact that recently existing testing practice in Ukraine supposes to examine donors or pregnant women with test-system purchased at the expense of state budget, and the rest of population is examined with the test-systems purchased at the expense of local budget. Poltava region is the region with the lowest percentage of testing at the expense of local budgets from the total number of testing, and it is reflected in insufficient coverage with HIV-infection testing for all comers in the region [1]. This problem is required to be solved.

Thus, there have been changes in the structure of HIV-infection revealed cases with the predominance of persons beyond the risk groups. The mentioned above begs the question of providing compulsory access to HIV examination for all comers and it can give the possibility to find out the real HIV distribution among population in whole.

Thus, the obtained data make it possible to draw the following conclusions:

1. There is a stable increase of HIV-infection morbidity indices (from 6,8 per 100,00 people in 2002 till 31,2 per 100,00 people in 2011); it takes place on the ground of changes concerning the structure of firstly diagnosed HIV cases with the predominance of persons beyond the risk groups (from 48,6% in 2005 till 57,3% in 2011).

2. There has been the change in HIV transmission with the predominance of the sexual way (47,2%) that is the real threat of HIV spreading among population in addition to the great number of HIV infected persons in the region beyond the dispensary registration – 2202 (41,8%).

3. The predominance of HIV sexual transmission raises the question of providing compulsory access to HIV examination for all comers.

4. Nowadays it is necessary to direct sanitary and educational actions concerning HIV prevention towards the common layers of population, mainly the young people with their awareness of HIV infecting personal risk.

References

1. VIL-infekziya v Ukraïni: informaziyiny byuleten' № 37. — K., 2012. — 82 s.
2. VIL-infekziya v Ukraïni: informaziyiny byuleten' № 35. — K., 2011. — 64 s.
3. VIL-infekziya v Ukraïni: informaziyiny byuleten' № 38. — K., 2012. — 21 s.
4. Epidemiologichna charakteristika VIL/SNIDu u Poltavs'kiy oblasti na suchasnomu etapi / G. M. Dubins'ka, V. F. Shapoval, T. I. Koval' ta in. // Epidemiologiya, gigiena, infekziyni chvorobi. - 2011. - № 2. - S. 34-38.
5. Zaporozhan V.M. VIL-infekziya i SNID. — K. : Zdorov'ya, 2003. — 624 s.
6. Maliy V. P. VICH-infekziya/SPID. — M. : Eksmo, 2009. — 672 s.
7. V. Zaporozhan / HIV infection and AIDS. - K.: Zdorov'ja 2003. - 624 p.
8. V. Malui / HIV infection and AIDS - M.: Eksmo, 2009. — 672 p.

Матеріал надійшов до редакції 16.10.2013 р.

Інформація для авторів

З метою дотримання міжнародних правил оформлення, авторам рекомендується ознайомитися з “Єдиними Вимогами до Рукописів для Біомедичних Журналів” на www.icmje.org.

У якості невід’ємної частини процесу публікації, автори, рецензенти і редактори повинні повідомити про будь-які конфлікти інтересів і надати детальну інформацію, підписавши форму Заяви про Службову Етику та надіславши її на адресу редакції журналу. Авторі рукописів зобов’язані поважати право приватності пацієнта. Перед початком дослідження пацієнт повинен заповнити і розписатися у формі Заяви про Інформовану Згоду. До статті додається акт експертної комісії про відсутність конфіденційної інформації та направлення установи. В направленні засвідчується, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями.

Статті публікуються українською, російською або англійською мовами. Авторський оригінал подається у двох примірниках, що складаються із основного тексту (стаття – 15 сторінок, огляд – 20 сторінок, коротке повідомлення – 7 сторінок); списку літератури (статті – до 20, огляди – до 50, короткі повідомлення – до 15 джерел); таблиць; ілюстрацій (не більше 4); назв рисунків; анотацій українською, російською та англійською мовами (орієнтовно 250 слів), що повинні містити обґрунтування мети, матеріалів та методів, результати дослідження.

На першій сторінці зазначаються: шифр УДК; прізвища авторів, ініціали, наукові ступені та звання; назва статті; установи, де працюють автори, місто; ключові слова – від 5 до 10 слів або словосполучень, що розкривають зміст статті. Назва статті російською, українською та англійською мовами повинна бути стислою і не перевищувати 120 символів. Підзаголовок є прийнятним. Текст статті повинен бути структурований наступним чином: вступ, мета, матеріал і методи, результати та висновок. На останній сторінці тексту власноручні підписи всіх авторів: прізвище, ім’я та по-батькові, поштова адреса, номери телефонів (службовий, домашній), за якими редакція буде контактувати із авторами. Подаючи статтю до редакції, автори тим самим підтверджують оригінальність роботи. Це означає, що авторські права або будь-які інші права власності третіх осіб не порушуються. Підписами автори засвідчують, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями. Текст друкується шрифтом не менше 2,8 мм на білому папері через два інтервали, на аркушах формату A4 (210x297 мм), поля з усіх боків по 20 мм. Крім двох роздрукованих копій, матеріал потрібно надати на компакт-диск, текст статті повинен бути у форматі Microsoft Word. Латинські терміни, іншомовні слова повинні бути надруковані курсивом. Тільки загальноновживані скорочення можуть подаватися без пояснення. Скорочення у назві статті не є прийнятними. Всі величини приводяться в одиницях SI, однак допустимими є й інші загальноновживані позначення та одиниці вимірювання (l, min., h, C, Da, cal). Ілюстрації (рисунки, фотографії) повинні бути пронумеровані. Назви рисунків повинні бути надруковані на окремій сторінці. Малюнки повинні бути виконані з використанням інструментів, доступних у текстових редакторах або в Excel. Фотографії повинні бути високоякісними. Таблиці розміщуються на окремих аркушах, нумеруються послідовно, кожна сторінка супроводжується коротким заголовком. Рисунки є доповненням до тексту статті і не повинні повторювати інформації, поданої у рукописі. На звороті рисунків олівцем ставлять їхні порядкові номери, зазначають прізвище першого автора, скорочену назву статті. Список літератури оформлюється на окремих сторінках без скорочень. Авторі подаються за абеткою, спочатку джерела кирилицею, потім латиницею. Посилання у тексті позначаються цифрами у [квадратних] дужках. Порядок оформлення списку літератури: для монографій – Прізвище, ініціали. Назва книги. Місце видання: видавництво, рік видання. Кількість сторінок; для журналів – Прізвище, ініціали. Назва статті. Назва журналу. Том, номер. Рік: сторінки, на яких вміщено статтю.

Одночасно, автори надають повний переклад тексту, підписуночних підписів і табличних матеріалів англійською мовою. У переліку використаної літератури посилання, наведені кирилицею, транслітеруються із застосуванням програми “Trans 1.02” або подібних програм.

Усі рукописи журналу рецензовані незалежними експертами. Процедура рецензування включає перевірку статті протягом двох тижнів двома спеціалістами, призначеними редакційною радою. Рукопис із рецензією надсилається автору для внесення коректив перед остаточною поданням статті до редакції журналу.

Після публікації статті автори передають авторські права редакції журналу. Редакція залишає за собою право змінювати і виправляти рукопис, однак внесені корективи не повинні змінювати загального змісту та наукового значення статті.

Залучаючи до дослідження пацієнтів, автори несуть відповідальність за виконання етичних стандартів Гельсінкської декларації 1975 із поправками 2005 року. Рукопис повинен містити наступний пункт: “Ми заявляємо, що під час дослідження права пацієнтів були враховані у відповідності до вимог Гельсінкської конвенції”. При виникненні сумнівів щодо відповідності рукопису до вимог Гельсінкської декларації, автори будуть зобов’язані відзвітуватися про сумнівні аспекти дослідження і обґрунтувати підстави свого підходу.

Якщо дослідження виконується без залучення лабораторних тварин, рукопис повинен містити наступний пункт: “Ми заявляємо, що ми не проводимо досліджень на тваринах”. Дослідження, які проводяться на тваринах, повинні відбуватися у відповідності із встановленими інституціональними нормами використання лабораторних тварин. Науковці повинні керуватися принципами гуманного ставлення до тварин, що використовуються в дослідках. Необхідно подати наступну інформацію: вид тварин, генетичний статус: лінія (згідно правил стандартного позначення ліній лабораторних тварин); категорія лабораторних тварин або їх мікробіологічний статус; маса та вік тварин на початку експерименту; карантин або тривалість періоду акліматизації під час перевезення тварин на великі відстані; утримання тварин під час експерименту (параметри мікроклімату, температура, вологість, об’єм повітря, світловий режим, тип клітки, тип підстилки). Авторі повинні підтвердити відповідність нормативам утримання та годування тварин (Європейська конвенція по захисту хребтових тварин, що використовуються з експериментальною або іншою метою. – Страсбург, 1986), наявність сертифікату якості, а також повідомити джерело набуття тварин. Необхідно описати всі процедури, які виконуються на тварині, дози препаратів, що вводилися, хірургічні втручання та інші дії, а також відмітити використання при цьому методів анестезії (див. інформацію про Права Людини і Тварини).

Ці правила поширюються на всі види рукописів, у тому числі статті, короткі доповіді, коментарі до клінічних випробувань. Рукописи, які не відповідають цим вимогам, будуть повернені авторам для корекції.

Information for authors

In order to comply with the international regulations, the authors are strongly encouraged to consult the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" at www.icmje.org.

As an integral part of the publication process, the authors, reviewers and editors are required to confirm whether they have any conflicts of interest to declare, and to provide details of these in the following Conflict of Interest Statement Form. The authors of the articles will respect the patients' right to privacy. Upon the familiarization with the abovementioned details, the patient must complete the Standard Statement of Informed Consent Form. The lack of confidential data must be certified by the act of expert committee attached to the article. The referral from the corresponding establishment with the statement that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals must be sent with it as well.

Articles in Ukrainian, Russian or English are accepted for publication in *The Medical and Ecological Problems*. The article is submitted to journal in two copies. The article comprises the text of the research (15 pages for articles, 20 pages for reviews, 7 pages for brief reports); the list of cited literature (20 positions at most for articles; 50 positions at most for reviews; 15 positions at most for brief reports); tables, figures (no more than 4); legends and captions; summaries in Ukrainian, Russian and English (approximately 250 words) providing the arguments in support of the aim of the research, explanation of materials and methods, the results and conclusions.

The first page contains UDC code, author's record (name, initials, scholar degrees, title, the title of the article, institution, city) and keywords – from 5 to 10 words or phrases revealing the content of the article. Title of the paper in Russian, Ukrainian and English should be concise, it must not exceed 120 characters. A subtitle is acceptable. The text of original papers must be divided into paragraphs, including introduction, the aim of the research, materials and methods, results and conclusions. The last page must be manually signed by author(s) of the article, featuring first name, last name and patronymic, address, telephone numbers (office, home) for Editorial office to keep contact with. By submitting a paper to the editor, authors thereby confirm the original form of the articles, which means that the copyright or any other property rights of the third parties are not violated. The author(s) sign the article thereby certifying that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals. The text of the manuscript must be in printing type no less than 2,8 mm, double-spaced, on A4-size sheets (210x297 mm); margins from each side – 20 mm. Along with 2 printed copies, the manuscript is provided in Microsoft Word format on electronic media. Latin notions and foreign words must be typed in italics. Only common abbreviations may be left unexplained. No abbreviations are acceptable in the title. All values are set in SI units; however, other generally used abbreviations and units (l, min., h, C, Da, cal) are also accepted. Figures (drawings, photographs) must be numbered. Figure captions are to be printed on a separate page. Drawings should be prepared using tools available in Word processors or in Excel. Photographs must be of high quality. Tables should be on separate sheets, numbered consecutively and headed by a concise title. Figures are adjuncts to the text and should not repeat material presented therein. On the reverse side of the figures it is necessary to write with a pencil their sequence numbers, name of the first author and the short title of the article. The list of cited literature is provided on a separate page without abbreviations. The authors are stated in alphabetical order, at first the sources in Cyrillic alphabet, then in Roman alphabet. The references in the text are indicated in [square] brackets. The cited works are to be compiled in the following way: for monographies – Name, initials. Book name. Place of publication. Publishing house, year. Total number of pages; for journals – Name, initials. Article name. Abbreviated name of journal. Volume, number: pages containing the article.

At the same time the authors provide full translation of the article's text, picture captions and table materials into English. In the list of references, the Cyrillic positions must be transliterated with the use of "Trans 1.02" or similar programs.

The original papers are peer-reviewed. Usually editorial staff chooses two readers who review papers during two weeks. The manuscript with review is sent to authors and after being corrected is delivered to editorial office for final acceptance.

Upon publication of the paper, the authors transfer the copyright to the Editorial office of the journal. The Editorial office reserves the right to alter and correct the manuscript considered for publication in the way that will not change its overall content and value.

When reporting experiments on human subjects, authors should indicate whether the procedures were performed in accordance with the ethical standards of Helsinki Declaration of 1975 as revised in 2005. Therefore the manuscript must include the following clause: "We declare that during research the rights of patients were taken into consideration according to Helsinki Convention". If doubts for that matter arise, the authors must account for the doubtful aspects of the study and explain the reasons for their approach.

If the research does not presuppose experiments on laboratory animals, the article must include the following statement: "We declare that we do not perform research on animals". When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and national guides for care and use of laboratory animals were respected. The authors must follow the principles of humane attitude to animals used in experiments. They must submit the following information: type of animals, genetic status: the line (according to standard rules of defining the lines of laboratory animals); the category of laboratory animals or their microbiological status; weight and age of animals at the beginning of the experiment; quarantine or acclimatization period during transportation over long distances; maintenance conditions during the experiment (microclimate parameters, temperature, humidity, air volume, light conditions, cage type, type of bedding material). The authors must prove the compliance with normative standards on animals maintenance and foddering (European Convention for the Protection of vertebral animals used in experiments or other purposes. – Strasbourg, 1986) and provide the information as to the acquisition source of animals, as well as the quality certificate. It is necessary to describe all procedures performed on animals, introduced doses of medications, surgical interventions and other actions, the use of anesthesia methods (See Statement of Human and Animal Rights).

The abovementioned requirements must apply to all original papers, including original research, brief reports, case reports and also for comments on clinical trials. Manuscripts that do not meet these requirements will be returned to authors for correction.

