

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

---

# Проблеми екології

## та медицини

Том 21 N 5-6 2017

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 1997 році

Виходить 1 раз на 2 місяці

---

### Зміст

#### ПЕРСОНІФІКОВАНА МЕДИЦИНА

ІНТЕГРОВАНІ СХЕМИ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ ДЛЯ ПРОГНОСТИЧНОЇ МЕДИЦИНИ ПРОТЯГОМ ЖИТТЄВОГО ЦИКЛУ

(ПРОГРАМНИЙ ДОКУМЕНТ "ARIA – 2016")

**В. Барзилович, В. Чоп'як, І. Гогунська, Л. Яшина, І. Кайдашев, Т. Уманець, Д. Заболотна, С. Зайков, І. Агаче, К. Бахерт, А. Бебрук, Г. Каноніка, Т. Касале, А. Круз, В. Фоккенс, П. Хеллінгс, Б. Самолінський, Ж. Буске** ..... 3

ENGLISH VERSION: INTEGRATED CARE PATHWAYS FOR PREDICTIVE MEDICINE ACROSS THE LIFE CYCLE (ARIA – 2016 EXECUTIVE SUMMARY)

**V. Barzylovich, V. Chopiak, I. Gogunskaya, L. Iashyna, I. Kaidashev, T. Umanets, D. Zabolotna, S. Zaikov, I. Agache, C. Bachert, A. Bedbrook, G. Canonica, T. Casale, A. Cruz, W. Fokkens, P. Hellings, B. Samolinski, J. Bousquet** ..... 9

#### КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ БІОМАРКЕРІВ ДИСБАЛАНСУ МІЖ ЕНЕРГЕТИЧНИМ І ПЛАСТИЧНИМ ПОТЕНЦІАЛАМИ, ДЛЯ ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМУ РОЗВИТКУ ПЕЧІНКОВОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ВІРУСНОМУ ГЕПАТИТІ С

**Багмут І.Ю., Граматюк С.М.** ..... 15

ENGLISH VERSION: THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF BIOMARKERS FOR THE IMBALANCE BETWEEN ENERGY AND PLASTIC POTENTIALS FOR LEARNING THE MECHANISM OF DEVELOPMENT OF HEPATIC ENCEPHALOPATHY IN CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

**I.Yu. Bagmut, S.M Gramatiuk** ..... 19

АНТИТРОМБОТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ПРОФИЛАКТИКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ (СМЕРТЬ, ОСТРЫЙ ИНФАРКТ МИОКАРДА, ИНСУЛЬТ) У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

**Герасименко Н.Д., Расин М.С.** ..... 23

ENGLISH VERSION: ANTITHROMBOTIC THERAPY IN PREVENTION OF CARDIOVASCULAR EVENTS (DEATH, ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION, STROKE) IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

**N.D. Gerasimenko, M.S. Rasin** ..... 29

ДОДАВАННЯ ДО ЛІКУВАННЯ КВЕРЦЕТИНУ ЗНИЖУЄ РІВЕНЬ ІНТЕРЛЕЙКІНУ 6 У ХВОРИХ ЖІНОК НА ЗАЛІЗОДЕФІЦІТНУ АНЕМІЮ З ОЖИРІННЯМ

**Недоборенко В.М., Кайдашев І.П., Лавренко А. В., Весніна Л. Е., Мамонтова Т.В..... 34**

ENGLISH VERSION: INCLUSION OF QUERCETIN IN TREATMENT REDUCES THE LEVEL OF INTERLEUKIN 6 IN WOMEN WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA AND OBESITY

**V. M. Nedoborenko, I.P. Kaidashev, A.V. Lavrenko, L.E. Vesnina, T.V. Mamontova ..... 37**

PECULIARITIES OF HELP MANAGEMENT TO PATIENTS WITH ACUTE OTITIS MEDIA COMPLICATED BY MASTOIDITIS

**Н.Ye. Timen, M.I. Bezeha..... 40**

## **КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК**

КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК ПОЗАЛІКАРНЯНОЇ ПНЕВМОНІЇ УСКЛАДНЕНОЇ РОЗВИТКОМ СЕПСИСУ, ВИКЛИКАНОГО KLEBSIELLA PNEUMONIAE

**Лавренко А.В..... 46**

ENGLISH VERSION: COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA COMPLICATED BY SEPSIS CAUSED BY KLEBSIELLA PNEUMONIAE: A CASE REPORT

**A.V. Lavrenko..... 51**

## **ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА**

МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО ЗБОРУ ТА АНАЛІЗУ КОНДЕНСАТУ ВОЛОГИ ВИДИХУВАНОВОГО ПОВІТРЯ

**Авраменко Я.М., Борзих О.А. .... 56**

ENGLISH VERSION: METHODOICAL APPROACHES TO COLLECTING AND ANALYZING THE EXHALED BREATH CONDENSATE

**Ya.M. Avramenko, O.A. Borzykh..... 59**

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN PERIODONTAL TISSUES UNDER THE ACTION OF LOCAL PATHOGENIC FACTOR ON GUMS IN RATS EXPOSED TO MODELED SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE

**A.M. Yelins'ka, V.O.Kostenko ..... 62**

THE DAMAGE OF MEMBRANES STRUCTURE OF HEPATOCYTES IN RATS DURING FLUORIDE INTOXICATION

**I.L. Kolisnyk, I.Yu. Bagmut, A.V. Titkova, Yu.K. Rezunenکو, ф S.N. Filipchenko..... 65**

L-АРГІНІН: ГЛІЦИН-АМІДІНО-ТРАНСФЕРАЗА, ЯК АЛЬТЕРНАТИВНИЙ БІОМАРКЕР УРАЖЕННЯ НИРОК ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Попова Т.М. .... 67**

ENGLISH VERSION: L-ARGININE: GLYCINE-AMIDINOTRANSFERASE AS AN ALTERNATIVE BIOMARKER OF ANIMAL RENAL DAMAGE IN EXPERIMENTAL INTOXICATION

**T.M. Popova ..... 71**

**ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ АВТОРІВ..... 75**

**INFORMATION FOR AUTHORS..... 76**

# ПЕРСОНІФІКОВАНА МЕДИЦИНА

© В. Барзилович, В. Чоп'як, І. Гогунська, Л. Яшина, І. Кайдашев, Т. Уманець, Д. Заболотна, С. Зайков, І. Агаче, К. Бахерт, А. Бедбрук, Г. Каноніка, Т. Касале, А. Круз, В. Фоккенс, П. Хеллінгс, Б. Самолінський, Ж. Буске

## ІНТЕГРОВАНІ СХЕМИ МЕДИЧНОЇ ДОПОМОГИ ДЛЯ ПРОГНОСТИЧНОЇ МЕДИЦИНИ ПРОТЯГОМ ЖИТТЄВОГО ЦИКЛУ (ПРОГРАМНИЙ ДОКУМЕНТ "ARIA – 2016")\*

В. Барзилович<sup>1\*</sup>, В. Чоп'як<sup>2\*</sup>, І. Гогунська<sup>3\*</sup>, Л. Яшина<sup>4,6\*</sup>, І. Кайдашев<sup>5\*</sup>, Т. Уманець<sup>1\*</sup>, Д. Заболотна<sup>3\*</sup>, С. Зайков<sup>6\*</sup>, І. Агаче<sup>7</sup>, К. Бахерт<sup>8</sup>, А. Бедбрук<sup>9</sup>, Г. Каноніка<sup>10</sup>, Т. Касале<sup>11</sup>, А. Круз<sup>12</sup>, В. Фоккенс<sup>13</sup>, П. Хеллінгс<sup>14</sup>, Б. Самолінський<sup>15</sup>, Ж. Буске<sup>16</sup>

\* – Робоча група ARIA в Україні:

<sup>1</sup> Державна установа «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України»

<sup>2</sup> Кафедра клінічної імунології та алергології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

<sup>3</sup> Центр алергічних захворювань верхніх дихальних шляхів та вуха ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України».

<sup>4</sup> Відділення діагностики, терапії та клінічної фармакології захворювань легень ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України».

<sup>5</sup> Кафедра внутрішньої медицини № 3 з фтизіатрією, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, Україна.

<sup>6</sup> Кафедра фтизіатрії і пульмонології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Україна.

Координатори проекту ARIA в інших країнах-учасниках:

<sup>7</sup> Трансильванський університет Брашова, Румунія.

<sup>8</sup> Дослідницька лабораторія з діагностики захворювань верхніх дихальних шляхів, Відділення оториноларингології, Університетська лікарня, Гент, Бельгія.

<sup>9</sup> Програма «MACVIA-France, Contre les Ladies Chroniques pour un Vieillissement Actif en France», Європейське інноваційне партнерство з активного і здорового старіння, Монпельє, Франція.

<sup>10</sup> Клініка астми та алергії, Гуманітарний університет, Роццано, Мілан, Італія.

<sup>11</sup> Кафедра алергології та імунології, Університет Південної Флориди, Тампа, штат Флорида, США.

<sup>12</sup> Програма «ProAR – Nucleo de Excelencia em Asma», Федеральний університет Баїя, Виконавчий комітет проекту «GARD», Сальвадор, Бразилія.

<sup>13</sup> Кафедра оториноларингології, Академічний медичний центр, Амстердам, Нідерланди.

<sup>14</sup> Лабораторія клінічної імунології, кафедра мікробіології та імунології, Левен, Бельгія.

<sup>15</sup> Кафедра попередження екологічних небезпек та алергології, Варшавський медичний університет, Польща.

<sup>16</sup> Університетська лікарня, Монпельє, Франція.

Ініціатива "Алергічний риніт і його вплив на астму" ("Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma" – ARIA) була започаткована під час семінару Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) в 1999 році. Початкові цілі були: (I) запропонувати нову класифікацію алергічного риніту, (II) розвинути концепцію супутніх захворювань при астмі та риніті і (III) розробити керівні принципи для зацікавлених сторін з метою глобального використання в усіх країнах і групах населення. Проект ARIA – поширений і впроваджений в більш ніж 70 країнах світу, – в даний час зосереджується на застосуванні нових технологій для розвитку індивідуалізованої і прогностичної медицини. Сигнальна мережа "MASK" (MACVIA (Contre les MALadies Chroniques pour un Vieillissement Actif)-ARIA Sentinel Network) використовує мобільні технології для розробки схем медичної допомоги, з тим щоб досягти лікування риніту та астми багатопрофільною групою спеціалістів або самими пацієнтами. Додаток (Android і IOS) доступний в 20 країнах на 15 мовах світу. У ньому використовується візуальна аналогова шкала для оцінки контролю симптомів і продуктивності праці, а також клінічна система підтримки прийняття рішень. Додаток інтегровано в планшети, що уможливають співпрацю з лікарями та іншими медичними працівниками. Стратегія розширення масштабів заснована на рекомендаціях Європейського інноваційного партнерства з активного і здорового старіння. Мета новітнього підходу ARIA полягає в тому, щоб забезпечити активний і здоровий спосіб життя пацієнтів з ринітом, незалежно від їх віку, статі чи соціально-економічного статусу, тим самим подолавши соціальну нерівність у сфері охорони здоров'я, що виникає в результаті цієї хвороби.

**Ключові слова:** ARIA, риніт, ІКТ, EIP з АНА, мобільні технології, AIRWAYS ICPs

Цитування при атестації кадрів: В. Барзилович, В. Чоп'як, І. Гогунська, Л. Яшина, І. Кайдашев, Т. Уманець, Д. Заболотна, С. Зайков, І. Агаче, К. Бахерт, А. Бедбрук, Г. Каноніка, Т. Касале, А. Круз, В. Фоккенс, П. Хеллінгс, Б. Самолінський, Ж. Буске. Інтегровані схеми медичної допомоги для прогностичної медицини протягом життєвого циклу (програмний документ "Aria – 2016") // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 3–8.

### Вступ

Пацієнти, лікарі та інші працівники сфери охорони здоров'я стикаються з різними варіантами лікування пацієнтів з АР. Це обумовлює виникнення значних відмінностей в клінічній практиці, і пацієнти часто незадоволені лікуванням. Ініціатива "Алергічний риніт і його вплив на астму" ("Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma" – ARIA) була започаткована під час семінару Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) в 1999 році. Її метою було надати керівництво з діагностики та лікування алергічного риніту, астми та супутніх захворювань [1, 2]. У 2008 році ARIA було оновлено з використанням тієї ж системи рекомендацій [1, 3]. У редакції від 2010 р., ARIA стала першим керівництвом з хронічних респіраторних захворювань з використанням системи GRADE (Градація рекомендацій, оцінок та етапів розвитку) – передової методики оцінки доказової бази [4, 5].

ARIA, поширена і впроваджена в більш ніж 70 країнах світу [6], в даний час зосереджується на реалізації нових технологій для розвитку індивідуалізованої і прогностичної медицини. Сигнальна мережа MASK (MACVIA (Contre les MALadies Chroniques pour un Vieillessement Actif)-ARIA Sentinel Network) використовує мобільні технології для розробки схем медичної допомоги, з тим щоб досягти лікування риніту та астми багатопрофільною групою спеціалістів або самими пацієнтами [7, 8].

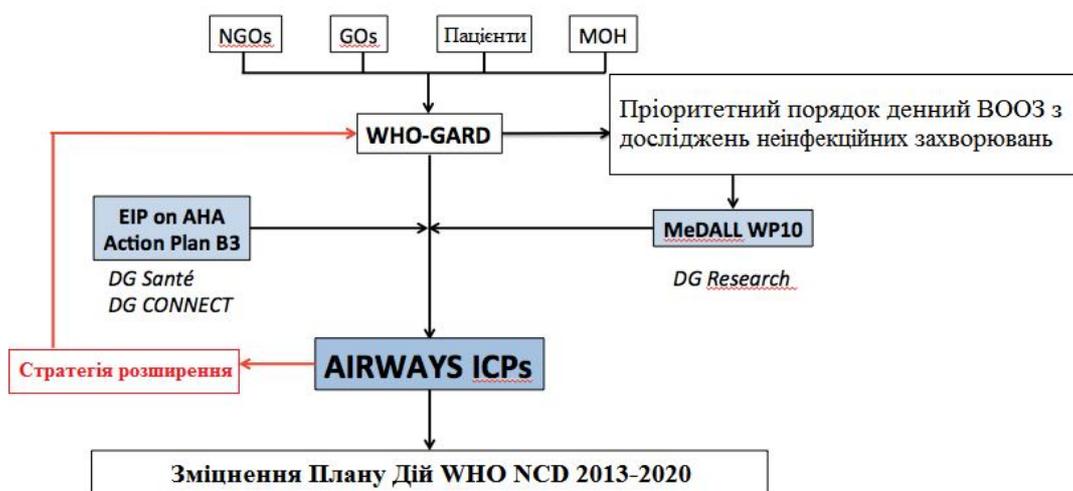
Мета новітнього підходу ARIA полягає в тому, щоб забезпечити активний і здоровий спосіб життя пацієнтів з ринітом, незалежно від їх віку, статі чи соціально-економічного статусу, тим самим подолавши соціаль-

ну нерівність у сфері охорони здоров'я, що виникає у результаті цієї хвороби.

### 1. AIRWAYS ICPs: політична програма ARIA-2016

У 2012 році Європейська комісія започаткувала Європейське інноваційне партнерство з активного і здорового старіння (EIP з АНА, Головні управління Santé і Connect) для підвищення конкурентоспроможності ЄС і вирішення соціальних проблем на основі досліджень та інновацій [9]. План Дій ВЗ присвячено розширенню і поширенню досвіду успішних інноваційних інтегрованих моделей медичної допомоги при хронічних захворюваннях серед літніх пацієнтів, використовуючи хронічні респіраторні захворювання (ХРЗ) у якості пілотної моделі.

AIRWAYS ICPs (Інтегровані схеми ведення пацієнтів з захворюваннями дихальних шляхів) є інструментом здійснення реалізації проекту. Основне завдання AIRWAYS-ICPs – розробка алгоритмів багатогалузевого медичного догляду (ICPs) у лікуванні риніту, астми і супутніх захворювань, впровадження нових технологій для прогностичної медицини протягом усього життєвого циклу пацієнта [7, 8, 10] в країнах і регіонах. Мета проекту – зменшити вплив хронічних респіраторних захворювань на якість життя пацієнтів (ЯЖ) [7, 11]). План дій AIRWAYS ICPs було реалізовано і поширено в усьому світі [12]. Більше того, AIRWAYS ICPs – це демонстраційний проект Глобального альянсу ВООЗ по боротьбі з хронічними захворюваннями органів дихання (GARD) (Рис. 1). ARIA 2016 є одним з основних компонентів AIRWAYS ICPs [13].



NGO: неурядова організація, GO: урядова організація, MOH: Міністерство охорони здоров'я

Рис. 1: Взаємодія AIRWAYS ICPs з Європейським Союзом і ВООЗ (за Vousquet та ін. [11]).

### 2. Від керівних принципів до інтегрованих методів медичної допомоги: Сигнальна мережа MASK (MACVIA-ARIA Sentinel network)

#### Необхідність шляхів багатогалузевої медичної допомоги при риніті та астмі з використанням ІКТ

Велика кількість пацієнтів з АР, як видається, самостійно контролюють свій стан. Вони нечасто звертаються за консультацією до лікаря з приводу лікування алергії [14]. Проте, АР негативно впливає на соціальне життя, продуктивність у навчанні та на роботі [3]. Багато пацієнтів з АР застосовують препарати, що відпускаються без рецепта [15-17], і тільки не-

значна частина хворих звертається за медичною допомогою. Переважна більшість пацієнтів, які звертаються до лікаря, страждають від помірної / тяжкої форми риніту [18-20]. Пацієнти мають доступ до великої кількості препаратів, що відпускаються без рецепта, та рецептурних ліків, можна також обрати альтернативну медицину або алерген-специфічну імунотерапію [21]. Таким чином, ICPs слід розглянути можливість міждисциплінарного підходу, включаючи самоуправління симптомами відповідно до пропозиції AIRWAYS ICPs (Рис. 2).



Рис. 2: Алгоритм мультидисциплінарної медичної допомоги при алергічному риніті (за Bousquet та ін. [25]).

ICPs – це структуровані багатопрофільні плани надання медичної допомоги пацієнтам. Вони сприяють перетворенню керівних принципів у місцеві протоколи з їх подальшим провадженням у клінічній практиці. ICPs відрізняються від керівництва з клінічної практики, оскільки вони передбачають роботу мультидисциплінарної команди і зосереджують увагу на якісній і скоординованій допомозі. ICPs повинні мати механізм для запису варіацій / відхилень від планового догляду.

Для рекомендацій ARIA, були оцінені варіації / відхилення від планової медичної допомоги. Оцінка ступеня тяжкості захворювання пов'язана з декількома наслідками для здоров'я, включаючи якість життя [18-20]. Класифікація риніту (переривчастий / важкий, стійкий) є важливим показником перебігу супутнього захворювання при астмі (в деяких, але не у всіх дослідженнях) [22], тривалості лікування та ефективності лікування AP [23]. Однак, більшість пацієнтів приймають комбіновані пероральні антигістамінні препарати з інтраназальними кортикостероїдами, ефективність яких недостатньо оцінена в рекомендаціях, що застосовують належну методологію [24].

#### Простий підхід для оцінки управління симптомами при алергічному риніті

При AP, перехід від оцінки тяжкості симптомів до контролю хвороби і прийняття рішень щодо лікування здійснюється на основі (I) візуальної аналогової шкали (ВАШ) в якості спільної мови для управління AP, (II) категоризації AP за допомогою відрізків візуальної аналогової шкали, (III) простих інтерактивних додатків для пацієнтів (Щоденник перебігу алергії ARIA) і медичних працівників (Помічник до Щоденника алергії ARIA) [8, 25, 26], (IV) інтеграції всіх знань у формі ICPs [25] і (V) розвитку системи підтримки прийняття клінічних рішень (CDSS).

Симптоми AP варіюються щодня і вимагають сходинкових індивідуалізованих терапевтичних режимів впродовж тривалого часу. Пацієнти, піклувальники або медичні працівники повинні використовувати загальну систему підрахунку та оцінки симптомів, щоб швидко реагувати на їх зміни. MACVIA-ARIA пропонує простий алгоритм на основі візуальної аналогової

шкали, яка називається ARIA CDSS, для прийняття рішень щодо лікування [27].

#### Інструменти сигнальної мережі MASK): додатки "ARIA Allergy Diary" і "ARIA Allergy Diary Companion"

"ARIA Allergy Diary" (Щоденник перебігу алергії ARIA) доступний для пацієнтів у 15 країнах ЄС, Австралії, Бразилії, Канаді, Мексиці і Швейцарії, на 15 мовах (прямої переклад і зворотний переклад, культурологічно адаптовані і юридично сумісні версії). Також доступний додаток "Companion" (помічник для працівників сфери охорон-здоров'я) [26].

#### • Анкетування

Після реєстрації, користувачі "ARIA Allergy Diary" заповнюють прості анкети стосовно перебігу у них астми, риніту і впливу захворювання на ЯЖ (в цілому, на роботі і в навчанні, на повсякденну діяльність і сон) (табл. 1). Пілотне дослідження, яке включало близько 5,000 користувачів (9% старше 60 років), вказує на те, що на ці питання легко відповісти, і це може допомогти стратифікувати пацієнтів з ринітом [28].

Таблиця 1: Базовий опитувальник

- Питання 1: У мене риніт: Так/Ні  
 Питання 2: У мене астма: Так/Ні  
 Питання 3: Мої симптоми (відмітьте)
- Нежить
  - Свербіж у носі
  - Чхання
  - Закладеність носа
  - Почервоніння очей
  - Свербіж очей
  - Сльозотеча
- Питання 4: Як вони впливають на мене: Мої симптоми (відмітьте)
- Порушують сон
  - Обмежують мою щоденну діяльність
  - Обмежують мою продуктивність у навчанні / на роботі
  - Завдають клопоту
- Питання 5: Лікарські препарати  
 Питання 6: Чи отримуєте Ви в даний час імунотерапію (невелику дозу речовини, на яку у Вас алергія, зазвичай у вигляді ін'єкції або під язик)? Так/Ні

Якщо відповідь ТАК на Питання 6 (Питання 7 та 8):  
Питання 7: На що у Вас алергія?

- Пилок трав
- Пилок кропиви
- Пилок берези
- Інші види пилку
- Пилові кліщі
- Шерсть тварин
- Пилок кипарису
- Алерген невідомий
- Додайте свій алерген

Питання 8: У якій формі Ви приймаєте ліки?

- Ін'єкції
- Таблетка під язик
- Краплі під язик
- Спрей під язик

- Інше

Крім того, щотижня застосовуються два конкретних опитувальники, щоб оцінити вплив захворювання на якість життя пацієнтів (EQ-5D) [29] і продуктивність на роботі (WPAI-AS) [30].

• **Отримане лікування**

Список всіх доступних методів лікування астми, кон'юнктивіту і риніту включено до "ARIA Allergy Diary", і користувачі обирають лікування, яке вони приймають. Можуть бути обрані різноманітні методи лікування, і користувачі можуть оновлювати інформацію, коли (або якщо) вони змінили лікування (Рис. 3). Список був налаштований для всіх 20 країн, в яких доступний "ARIA Allergy Diary". Також пропонується інформація про алерген-специфічну імунотерапію в день її першого застосування.

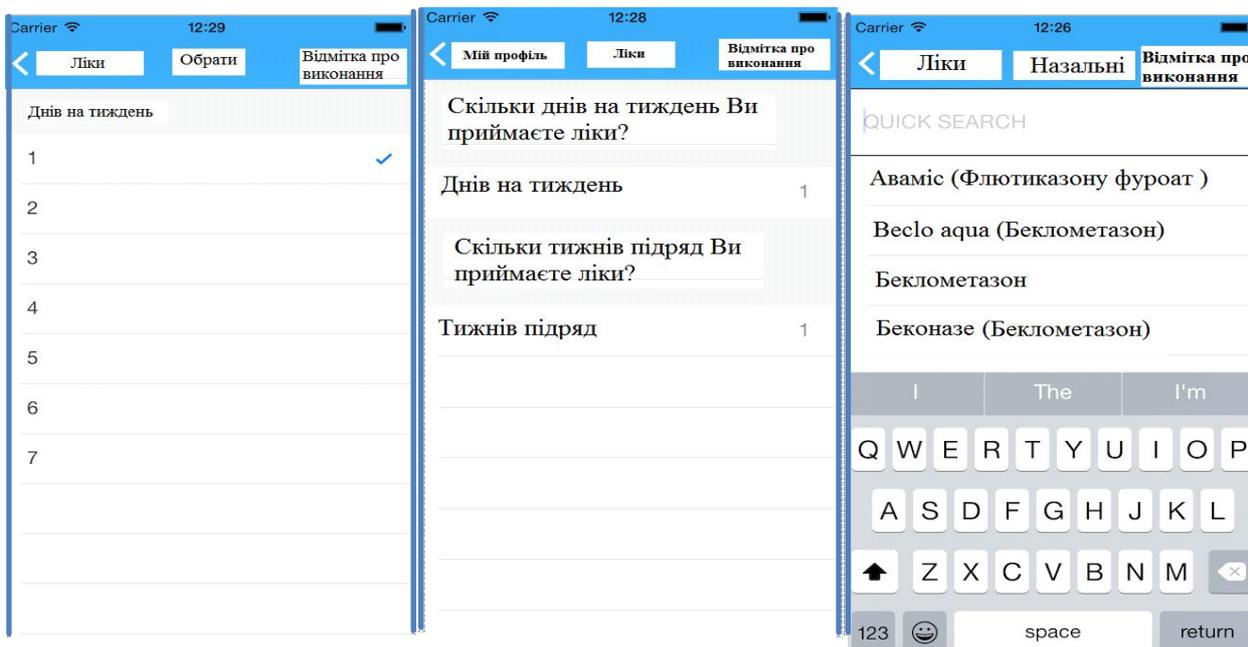
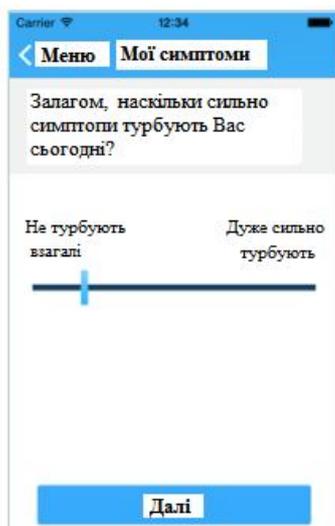


Рис. 3: Вигляд екрану з інформацією про медичні препарати

• **Щоденні візуальні аналогові шкали (ВАШ)**

Геолокалізовані користувачі оцінюють свій щоденний контроль за симптомами на сенсорному екрані смартфона, натиснувши на 5 послідовних ВАШ (гло-

бальні симптоми, викликані алергічними захворюваннями, ринітом, кон'юнктивітом, астмою та показники продуктивності праці) (Рис. 4).



Наскільки сильно симптоми, пов'язані з носом, турбують Вас сьогодні?

Наскільки сильно симптоми, пов'язані з очима, турбують Вас сьогодні?

Наскільки сильно симптоми астми турбують Вас сьогодні?

Рис 4: Щоденна візуальна аналогова шкала: Вигляд екрану

• Система підтримки прийняття клінічних рішень (CDSS)

Систему MASK CDSS інтегровано в додаток для медичних працівників (*ARIA Allergy Diary Companion*). Це алгоритм, заснований на застосуванні візуальної аналогової шкали, що допомогти клініцисту у підборі препаратів для пацієнтів з АР і стратифікації тяжкості захворювання [27]. Ця система використовує простий сходинковий індивідуальний підхід до фармакотерапії при АР.

3. Нові концепції алергічних супутніх захворювань, інтегровані в ARIA

Стратифікація пацієнтів з важкою формою алергії і / або астми

Незважаючи на значні успіхи в розумінні АР, лікування ефективно не для всіх пацієнтів [31]. У зв'язку з цим, принциповим є забезпечити більш ефективні терапевтичні втручання на основі індивідуального підходу, з використанням стратифікації пацієнтів за допомогою MASK.

Довгострокові дослідження вікових когорт пацієнтів необхідні для розуміння алергічних захворювань (в тому числі астми і риніту), складної взаємодії між генами і навколишнім середовищем [32]. BAMSE (Barn Allergi Milj. Stockholm Epidemiologi Projektet) [33] і MeDALL (Mechanisms of the Development of Allergy; ЄС FP7-CP-IP; Номер проекту: 261357; 2010-2015) [34] виявили рідкісний, однак серйозний фенотип алергії: полісенсibilізований-поліморбідний фенотип, підтверджений у когортах пацієнтів (у дітей і дорослих) [35-38]. Ці дослідження підтвердили, що особи з полісенсibilізованим-поліморбідним фенотипом мають дуже високу частоту алергічних симптомів, стійкі симптоми протягом тривалого часу, важку форму астми або риніту симптомів у порівнянні з іншими фенотипами, і вищі загальні і конкретні рівні IgE.

Взяті в цілому, ці результати вказують на те, що хворих на бронхіальну астму не можна лікувати належним чином без урахування супутнього риніту. Вони вказують на важливість таких проблем як риніт і / або риносинусит у багатьох неконтрольованих пацієнтів з бронхіальною астмою [39, 40].

Алергічні супутні захворювання у людей літнього віку

Очікувана хвиля епідемії астми і риніту у літніх людей є недостатньо визнаною проблемою. Люди похилого віку, які страждають на астму та риніт, мають специфічні симптоми і потреби в лікуванні. Ці пацієнти також страждають від супутніх захворювань, і повідомляється про високі показники одночасного призначення декількох медичних препаратів. ICPs для лікування риніту і астми повинні охоплювати весь життєвий цикл.

4. Масштабування стратегії в Україні

Існує гостра необхідність у розширенні масштабів стратегії для того, щоб (I) уникнути фрагментації, (II) поліпшити надання медичної допомоги по всій Європі, (III) прискорити впровадження передових методів з використанням існуючих економічно ефективних прикладів упровадження і (IV) реалізації цілей EIP з АНА [9]. Ця стратегія вже застосовується до плану дій EIP з АНА при хронічних захворюваннях органів дихання [12].

Висновок

ARIA перетворилася з чітко розробленого керівництва у гнучку стратегію впровадження на основі мобі-

льних технологій з метою забезпечення активного і здорового способу життя хворих на риніт, незалежно від їх віку, статі або соціально-економічного становища, для подолання соціальної нерівності у сфері охорони здоров'я, що виникає у результаті цієї хвороби.

Список абревіатур

AIRWAYS ICPs: Інтегровані схеми ведення пацієнтів з захворюваннями дихальних шляхів

AR: алергічний риніт

ARIA: алергічний риніт і його вплив на астму

CDSS: Система підтримки прийняття клінічних рішень

DG: Головне управління

EIP з АНА: Європейське інноваційне партнерство з активного і здорового старіння

ЄС: Європейський Союз

FP: Рамкова програма (ЄС)

GARD: Глобальний альянс ВООЗ по боротьбі з хронічними респіраторними захворюваннями

GRADE: Градація рекомендацій, оцінок, етапів розвитку

HCP: працівник сфери охорони здоров'я

ICP: Комплексні алгоритми медичної допомоги

MACVIA-LR: Боротьба з хронічними захворюваннями для забезпечення активного і здорового старіння

MASK: Сигнальна мережа MACVIA-ARIA

MeDALL: Механізми розвитку алергії (EU FP7)

NCD: Неінфекційні захворювання

RCT: рандомізоване контрольоване дослідження

RQLQ: опитувальник якості життя пацієнтів з ринокон'юнктивітом

SCUAD: важка хронічна хвороба верхні дихальних шляхів

VAS: візуальна аналогова шкала

WHO: Всесвітня організація охорони здоров'я

• Фінансування: Європейське партнерство інновацій з активного і здорового способу старіння, Фонд розвитку ЄС Лангедок-Руссільон, ARIA

Література

1. Shekelle PG, Woolf SH, Eccles M, Grimshaw J. Clinical guidelines: developing guidelines. *Bmj*. 1999;318(7183):593-6.
2. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(5 Suppl):S147-334.
3. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*. 2008;63 Suppl 86:8-160.
4. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;126(3):466-76.
5. Padjas A, Kehar R, Aleem S, Mejza F, Bousquet J, Schunemann HJ, et al. Methodological rigor and reporting of clinical practice guidelines in patients with allergic rhinitis: QuGAR study. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(3):777-83 e4.
6. Bousquet J, Schunemann HJ, Samolinski B, Demoly P, Baena-Cagnani CE, Bachert C, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(5):1049-62.
7. Bousquet J, Addis A, Adcock I, Agache I, Agusti A, Alonso A, et al. Integrated care pathways for airway diseases (AIRWAYS-ICPs). *Eur Respir J*. 2014;44(2):304-23.
8. Bousquet J, Hellings PW, Agache I, Bedbrook A, Bachert C, Bergmann KC, et al. ARIA 2016: Care pathways

- implementing emerging technologies for predictive medicine in rhinitis and asthma across the life cycle. *Clin Transl Allergy*. 2016;6:47.
9. Bousquet J, Michel J, Standberg T, Crooks G, Iakovidis I, Gomez M. The European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing: the European Geriatric Medicine introduces the EIP on AHA Column. *Eur Geriatr Med*. 2014;5(6):361-2.
  10. Bousquet J, Anto JM, Berkouk K, Gergen P, Antunes JP, Auge P, et al. Developmental determinants in non-communicable chronic diseases and ageing. *Thorax*. 2015;70(6):595-7.
  11. Bousquet J, Barbara C, Bateman E, Bel E, Bewick M, Chavannes NH, et al. AIRWAYS-ICPs (European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing) from concept to implementation. *Eur Respir J*. 2016;47(4):1028-33.
  12. Bousquet J, Farrell J, Crooks G, Hellings P, Bel EH, Bewick M, et al. Scaling up strategies of the chronic respiratory disease programme of the European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing (Action Plan B3: Area 5). *Clin Transl Allergy*. 2016;6:29.
  13. Bousquet J, Bewick M, Cano A, Eklund P, Fico G, Goswami N, et al. Building Bridges for Innovation in Ageing: Synergies between Action Groups of the EIP on AHA. *J Nutr Health Aging*. 2017;21(1):92-104.
  14. Kuehl BL, Abdulnour S, O'Dell M, Kyle TK. Understanding the role of the healthcare professional in patient self-management of allergic rhinitis. *SAGE Open Med*. 2015;3:2050312115595822.
  15. ARIA in the pharmacy: management of allergic rhinitis symptoms in the pharmacy. *Allergic rhinitis and its impact on asthma*. 2004;59(4):373-87.
  16. Canonica GW, Triggiani M, Senna G. 360 degree perspective on allergic rhinitis management in Italy: a survey of GPs, pharmacists and patients. *Clin Mol Allergy*. 2015; 13:25.
  17. Meltzer EO, Farrar JR, Sennett C. Findings from an Online Survey Assessing the Burden and Management of Seasonal Allergic Rhinoconjunctivitis in US Patients. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016.
  18. Bousquet J, Annesi-Maesano I, Carat F, Leger D, Rugina M, Pribil C, et al. Characteristics of intermittent and persistent allergic rhinitis: DREAMS study group. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(6):728-32.
  19. Bousquet PJ, Devillier P, Tadmouri A, Mesbah K, Demoly P, Bousquet J. Clinical Relevance of Cluster Analysis in Phenotyping Allergic Rhinitis in a Real-Life Study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;166(3):231-40.
  20. del Cuvillo A, Montoro J, Bartra J, Valero A, Ferrer M, Jauregui I, et al. Validation of ARIA duration and severity classifications in Spanish allergic rhinitis patients – The ADRIAL cohort study. *Rhinology*. 2010;48(2):201-5.
  21. Calderon MA, Demoly P, Casale T, Akdis CA, Bachert C, Bewick M, et al. Allergy immunotherapy across the life cycle to promote active and healthy ageing: from research to policies: An AIRWAYS Integrated Care Pathways (ICPs) programme item (Action Plan B3 of the European Innovation Partnership on active and healthy ageing) and the Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases (GARD), a World Health Organization GARD research demonstration project. *Clin Transl Allergy*. 2016;6:41.
  22. Cruz AA, Popov T, Pawankar R, Annesi-Maesano I, Fokkens W, Kemp J, et al. Common characteristics of upper and lower airways in rhinitis and asthma: ARIA update, in collaboration with GA(2)LEN. *Allergy*. 2007;62 Suppl 84:1-41.
  23. Bousquet PJ, Devillier P, Tadmouri A, Mesbah K, Demoly P, Bousquet J. Clinical relevance of cluster analysis in phenotyping allergic rhinitis in a real-life study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;166(3):231-40.
  24. Meltzer EO, Wallace D, Dykewicz M, Shneyer L. Minimal Clinically Important Difference (MCID) in Allergic Rhinitis: Agency for Healthcare Research and Quality or Anchor-Based Thresholds? *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(4):682-8 e6.
  25. Bousquet J, Schunemann HJ, Fonseca J, Samolinski B, Bachert C, Canonica GW, et al. MACVIA-ARIA Sentinel Network for allergic rhinitis (MASK-rhinitis): the new generation guideline implementation. *Allergy*. 2015; 70(11):1372-92.
  26. Bourret R, Bousquet J, J M, T C, Bedbrook A, P D, et al. MASK rhinitis, a single tool for integrated care pathways in allergic rhinitis. *World Hosp Health Serv*. 2015;51(3):36-9.
  27. Bousquet J, Schunemann HJ, Hellings PW, Arnavielhe S, Bachert C, Bedbrook A, et al. MACVIA clinical decision algorithm in adolescents and adults with allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(2):367-74 e2.
  28. Bousquet J, Caimmi D, Bedbrook A, M Bewick, Hellings P, Devillier P, et al. Pilot study of mobile phone technology in allergic rhinitis in European countries. The MASK-rhinitis study *Allergy*. 2017:in press.
  29. Konig HH, Bernert S, Angermeyer MC, Matschinger H, Martinez M, Vilagut G, et al. Comparison of population health status in six European countries: results of a representative survey using the EQ-5D questionnaire. *Med Care*. 2009;47(2):255-61.
  30. Blanc PD, Trupin L, Eisner M, Earnest G, Katz PP, Israel L, et al. The work impact of asthma and rhinitis: findings from a population-based survey. *J Clin Epidemiol*. 2001;54(6):610-8.
  31. Bousquet J, Bachert C, Canonica GW, Casale TB, Cruz AA, Lockey RJ, et al. Unmet needs in severe chronic upper airway disease (SCUAD). *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(3):428-33.
  32. Bousquet J, Anto J, Sunyer J, Nieuwenhuijsen M, Vrijheid M, Keil T, et al. Pooling birth cohorts in allergy and asthma: European Union-funded initiatives – a MeDALL, CHICOS, ENRIECO, and GA(2)LEN joint paper. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161(1):1-10.
  33. Westman M, Lupinek C, Bousquet J, Andersson N, Pahr S, Baar A, et al. Early childhood IgE reactivity to pathogenesis-related class 10 proteins predicts allergic rhinitis in adolescence. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(5):1199-206 e1-11.
  34. Bousquet J, Anto JM, Akdis M, Auffray C, Keil T, Momas I, et al. Paving the way of systems biology and precision medicine in allergic diseases: The MeDALL success story. *Allergy*. 2016.
  35. Burte E, Bousquet J, Varraso R, Gormand F, Just J, Matran R, et al. Characterization of Rhinitis According to the Asthma Status in Adults Using an Unsupervised Approach in the EGEA Study. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136191.
  36. Siroux V, Lupinek C, Resch Y, Curin M, Just J, Keil T, et al. Specific IgE and IgG measured by the MeDALL allergen-chip depend on allergen and route of exposure: The EGEA study. *J Allergy Clin Immunol*. 2016.
  37. Just J, Elegbede CF, Deschildre A, Bousquet J, Moneret-Vautrin DA, Crepet A, et al. Three peanut allergic/sensitized phenotypes with gender difference. *Clin Exp Allergy*. 2016.
  38. Zoratti EM, Krouse RZ, Babineau DC, Pongracic JA, O'Connor GT, Wood RA, et al. Asthma phenotypes in inner-city children. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(4):1016-29.
  39. Bresciani M, Paradis L, Des Roches A, Vernhet H, Vachier I, Godard P, et al. Rhinosinusitis in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(1):73-80.
  40. ten Brinke A, Grootendorst DC, Schmidt JT, De Bruine FT, van Buchem MA, Sterk PJ, et al. Chronic sinusitis in severe asthma is related to sputum eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(4):621-6.



## ENGLISH VERSION: INTEGRATED CARE PATHWAYS FOR PREDICTIVE MEDICINE ACROSS THE LIFE CYCLE (ARIA – 2016 EXECUTIVE SUMMARY)\*

V. Barzylovich<sup>1\*</sup>, V. Chopiak<sup>2\*</sup>, I. Gogunskaya<sup>3\*</sup>, L. Iashyna<sup>4,6\*</sup>, I. Kaidashev<sup>5\*</sup>, T. Umanets<sup>1\*</sup>, D. Zabolotna<sup>3\*</sup>, S. Zaikov<sup>6\*</sup>, I. Agache<sup>7</sup>, C. Bacher<sup>8</sup>, A. Bedbrook<sup>9</sup>, G. Canonica<sup>10</sup>, T. Casale<sup>11</sup>, A. Cruz<sup>12</sup>, W. Fokkens<sup>13</sup>, P. Hellings<sup>14</sup>, B. Samolinski<sup>15</sup>, J. Bousquet<sup>16</sup>

\* – ARIA action group in Ukraine:

<sup>1</sup> Government Institution «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology under NAMS of Ukraine».

<sup>2</sup> Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

<sup>3</sup> Center for Allergic Diseases of the Upper Respiratory Tract and Ear of the State Institution «O.S. Kolomyychenko Institute of Otolaryngology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine».

<sup>4</sup> Department of Diagnostic, Therapy and Clinical Pharmacology of Lung Diseases, SO «National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F.G. Yanovsky NAMS of Ukraine».

<sup>5</sup> Department of Internal Medicine No.3 with Phthysiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine.

<sup>6</sup> Department of Phthysiology and Pulmonology of National Medical Academy of Postgraduate education named after P.L. Shupik, Ukraine.

ARIA coordinators in other member countries:

<sup>7</sup> Transylvania University of Brasov, Brasov, Romania.

<sup>8</sup> Upper Airways Research Laboratory, ENT Department, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium.

<sup>9</sup> MACVIA-France, Contre les MALadies Chroniques pour un Vieillessement Actif en France, European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing Reference Site, Montpellier, France.

<sup>10</sup> Asthma and Allergy Clinic, Humanitas University, Rozzano, Milan, Italy.

<sup>11</sup> Division of Allergy/Immunology, University of South Florida, Tampa, FL USA.

<sup>12</sup> ProAR – Nucleo de Excelencia em Asma, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; GARD Executive Committee, Salvador, Bahia Brazil.

<sup>13</sup> Department of Otorhinolaryngology, Academic Medical Centre, Amsterdam, The Netherlands.

<sup>14</sup> Laboratory of Clinical Immunology, Department of Microbiology and Immunology, KU Leuven, Louvain, Belgium.

<sup>15</sup> Department of Prevention of Environmental Hazards and Allergology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland.

<sup>16</sup> University Hospital, Montpellier, France.

*The Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) initiative commenced during a World Health Organization (WHO) workshop in 1999. The initial goals were (i) to propose a new allergic rhinitis classification, (ii) to promote the concept of multi-morbidity in asthma and rhinitis and (iii) to develop guidelines with all stakeholders for global use in all countries and populations. ARIA – disseminated and implemented in over 70 countries globally – is now focusing on the implementation of emerging technologies for individualized and predictive medicine. MASK (MACVIA (Contre les MALadies Chroniques pour un Vieillessement Actif)-ARIA Sentinel Network) uses mobile technology to develop care pathways in order to enable the management of rhinitis and asthma by a multi-disciplinary group or by patients themselves. An App (Android and iOS) is available in 20 countries and 15 languages. It uses a visual analogue scale to assess symptom control and work productivity as well as a clinical decision support system. It is associated with an inter-operable tablet for physicians and other health care professionals. The scaling up strategy uses the recommendations of the European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing. The aim of the novel ARIA approach is to provide an active and healthy life to rhinitis sufferers, whatever their age, sex or socio-economic status, in order to reduce health and social inequalities incurred by the disease.*

**Key words:** ARIA, rhinitis, ICT, EIP on AHA, mobile technology, AIRWAYS ICPs

### Introduction

Patients, clinicians and other HCPs are confronted with various treatment choices for the management of AR. This contributes to considerable variation in clinical practice and patients are often unsatisfied by their treatment. The Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) initiative commenced during a World Health Organization (WHO) workshop in 1999 (published in 2001). Its aim was to provide a guide for the diagnosis and management of allergic rhinitis and asthma multimorbidity [1, 2]. In 2008, ARIA was updated using the same recommendation system [1, 3]. In its 2010 Revision, ARIA was the first chronic respiratory disease guideline to adopt the GRADE (Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation) approach, an advanced evidence evaluation methodology [4, 5].

ARIA, disseminated and implemented in over 70 countries around the world [6], is now focusing on the implementation of emerging technologies for individualized and predictive medicine. MASK (MACVIA (Contre les MALadies Chroniques pour un Vieillessement Actif)-ARIA Sentinel Network) uses mobile technology to develop care pathways in order to enable the management of rhinitis and asthma by a multi-disciplinary group or by patients themselves [7, 8].

The aim of the novel ARIA approach is to provide an active and healthy life to rhinitis sufferers across the life cycle, whatever their sex or socio-economic status, in order to reduce health and social inequities incurred by the disease.

#### 1. AIRWAYS ICPs: the ARIA 2016 political agenda

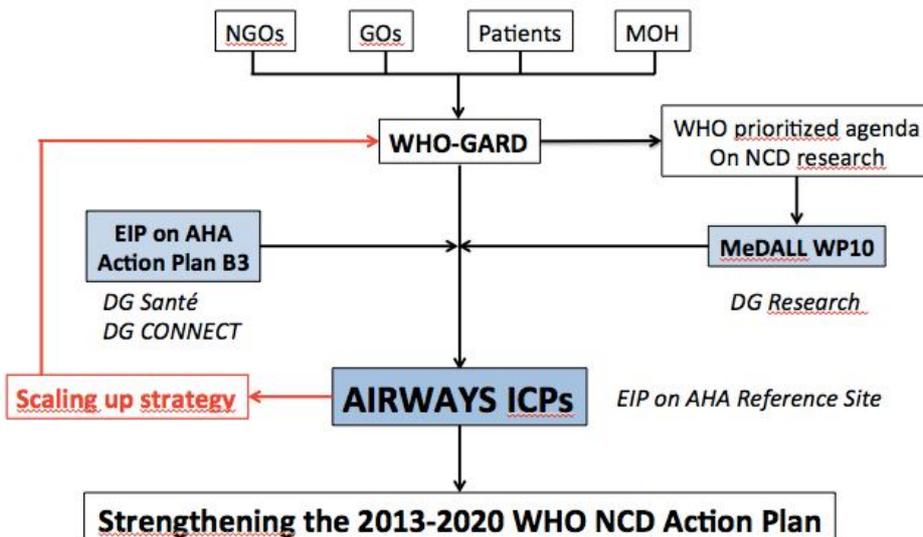
In 2012, the European Commission launched the European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing (EIP on AHA; DG Santé and DG CONNECT). The aim was to enhance EU competitiveness and tackle

\* To cite this English version: V. Barzylovich, V. Chopiak, I. Gogunskaya, L. Iashyna, I. Kaidashev, T. Umanets, D. Zabolotna, S. Zaikov, I. Agache, C. Bacher, A. Bedbrook, G. Canonica, T. Casale, A. Cruz, W. Fokkens, P. Hellings, B. Samolinski, J. Bousquet. *Integrated Care Pathways for Predictive Medicine across the Life Cycle (ARIA – 2016 Executive Summary) // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 9–14.*

societal challenges of ageing through research and innovation [9]. The B3 Action Plan is devoted to the scaling up and replication of successful innovative integrated care models for chronic diseases amongst older patients using Chronic Respiratory Diseases as the pilot project.

AIRWAYS ICPs (Integrated care pathways for airway diseases) is the implementation tool of the project. The major AIRWAYS-ICPs activity is the development of multi-sectoral care pathways (ICPs) for rhinitis, asthma and their multi-morbidities, implementing emerging tech-

nologies for predictive medicine across the patient life cycle [7, 8, 10] in countries and regions. The aim is to reduce chronic respiratory disease burden, mortality and multi-morbidity, while maintaining patients' quality-of-life (QOL) [7, 11]. The Action Plan of AIRWAYS ICPs has been implemented and scaled up globally [12]. Moreover, AIRWAYS ICPs is a WHO Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases (GARD) demonstration project (Figure 1). ARIA 2016 is a major component of AIRWAYS ICPs [13].



NGO: nongovernmental organisation, GO: Governmental organisation, MOH: Ministry of Health

Figure 1: AIRWAYS ICPs interactions between the European Union and WHO (from Bousquet et al [11]).

**2. From guidelines to integrated care pathways: MACVIA-ARIA Sentinel network (MASK)**

**Need for multisectoral care pathways for rhinitis and asthma using ICT**

A large number of AR patients appear to be self-managing their condition. They consult infrequently with regards to their allergy prescription [14]. However, AR negatively impacts social life, school and work productivity [3]. Many AR patients use over the counter (OTC)

drugs [15-17] and only a fraction request medical consultation. The vast majority of patients who visit GPs or specialists have moderate/severe rhinitis [18-20]. A large number of OTC or prescribed drugs are available for the patient who can also choose alternative medicine or allergen specific immunotherapy [21]. Thus, ICPs should consider a multi-disciplinary approach including self-management as proposed by AIRWAYS ICPs (Figure 2).

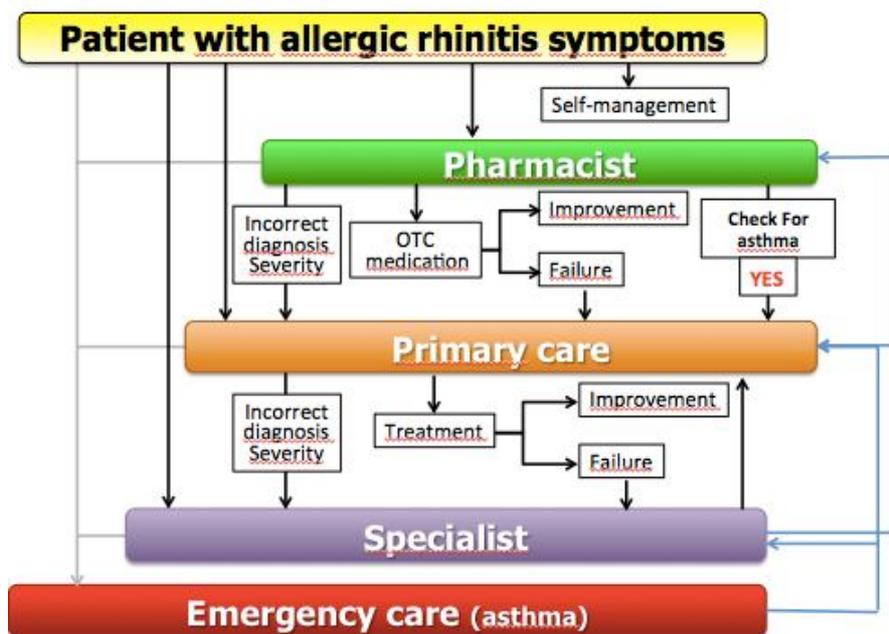


Figure 2: Multi-sectoral care pathway for allergic rhinitis (from Bousquet et al [25]).

ICPs are structured multi-disciplinary care plans detailing key steps of patient care. They promote the translation of guidelines into local protocols and their subsequent application to clinical practice. ICPs differ from clinical practice guidelines as they are utilized by a multi-disciplinary team, and focus on the quality and coordination of care. ICPs need to have a mechanism for recording variations/deviations from planned care.

For the ARIA recommendations, the variations/deviations from planned care have been assessed. Disease severity is associated with several health outcomes, including quality of life [18-20]. The classification of rhinitis (intermittent/severe-persistent) is an important indicator of asthma multi-morbidity (in some but not all studies) [22], duration of AR treatment and efficacy of treatment in AR [23]. However, most patients receive combinations of oral antihistamines and intra-nasal corticosteroids (INS) that are insufficiently evaluated in guidelines that use an appropriate methodology [24].

#### Simple approach to assess control in allergic rhinitis

In AR, the switch from symptom severity to disease control to guide treatment decisions has been led by ARIA and includes (I) a visual analogue scale (VAS) as a common validated language of AR control, (II) categorization of AR control using VAS score cut-offs, (III) incorporation of this VAS into simple interactive apps for both patients (*ARIA Allergy Diary*) and HCPs (*ARIA Allergy Diary Companion*) [8, 25, 26], (IV) the integration of all this knowledge into ICPs [25] and (V) the development of a clinical decision support system (CDSS).

AR symptoms vary daily and necessitate the step up/step down of individualized therapeutic regimens over time. Patients, caregivers or HCPs should use a common and simple AR symptom scoring system rapidly responsive to change. MACVIA-ARIA has produced a simple VAS-based algorithm, called the *ARIA CDSS*, which uses a VAS score to guide treatment decisions in a step-up/step-down approach [27].

#### The MASK (MACVIA-ARIA Sentinel network) tools: the *ARIA Allergy Diary* and *ARIA Allergy Diary Companion* apps

The *ARIA Allergy Diary* is freely available for patients in 15 EU countries, Australia, Brazil, Canada, Mexico and Switzerland and in 15 languages (translated and back-translated, culturally adapted and legally compliant). The companion App for HCPs is also freely available [26].

#### • Questionnaires

Upon registration, *ARIA Allergy Diary* users fill in simple questionnaires on asthma, rhinitis and the impact of the disease (globally, on work and school, on daily activities and on sleep) (table 1). The pilot study including around 5,000 users (9% over 60 years of age) indicates that these questions are easily answered and can help to stratify patients with rhinitis [28].

Table 1: Baseline questionnaire

- Q1: I have rhinitis: Yes/No  
 Q2: I have asthma: Yes/No  
 Q3: My symptoms (tick)
- Runny nose
  - Itchy nose
  - Sneezing
  - Congestion (blocked nose)
  - Red eyes
  - Itchy eyes
  - Watery eyes
- Q4: How they affect me: My symptoms (tick)
- Affect my sleep
  - Restrict my daily activities
  - Restrict my participation in school or work
  - Are troublesome
- Q5: Medications  
 Q6: Are you currently receiving immunotherapy (a small dose of the thing you are allergic to, usually taken as an injection or placed under your tongue)? Yes/No  
 If YES to Q6 (Q7 and Q8)
- Q7: What allergy is this?
- Grass pollen
  - Parietaria pollen
  - Birch pollen
  - Other pollen
  - Dust mite
  - Animal
  - Cypress tree pollen
  - Don't know
  - Add allergy
- Q8: How do you receive your treatment?
- Injection
  - Tablet under the tongue
  - Drops under the tongue
  - Spray under the tongue
  - Other
- Moreover, two specific questionnaires are applied every week to assess disease impact on patients' QoL (EQ-5D) [29] and productivity at work (WPAI-AS) [30].
- **Treatments received**
- A list of all treatments available for asthma, conjunctivitis and rhinitis is included in the *ARIA Allergy Diary* and users select the treatment(s) they are taking. Multiple treatments may be selected, and users can update the information when (or if) their treatment changes (Figure 3). The list has been customized for all 20 countries in which the *ARIA Allergy Diary* is available. Information on allergen specific immunotherapy is also requested on the day of first use.

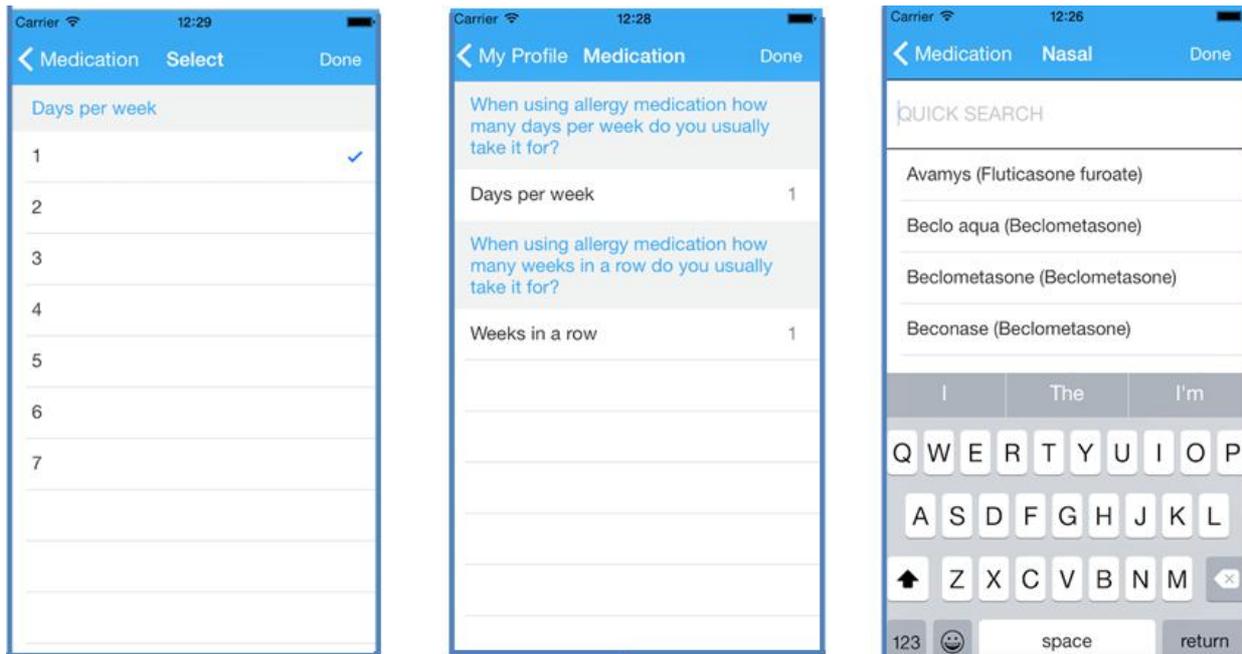


Figure 3: Screens on medications

- **Daily visual analogue scales**

Geolocalized users assess their daily symptom control via the touchscreen functionality on their smart phone to click on 5 consecutive VASs (global symptoms due to allergic diseases, rhinitis, conjunctivitis, asthma and work productivity) (Figure 4).

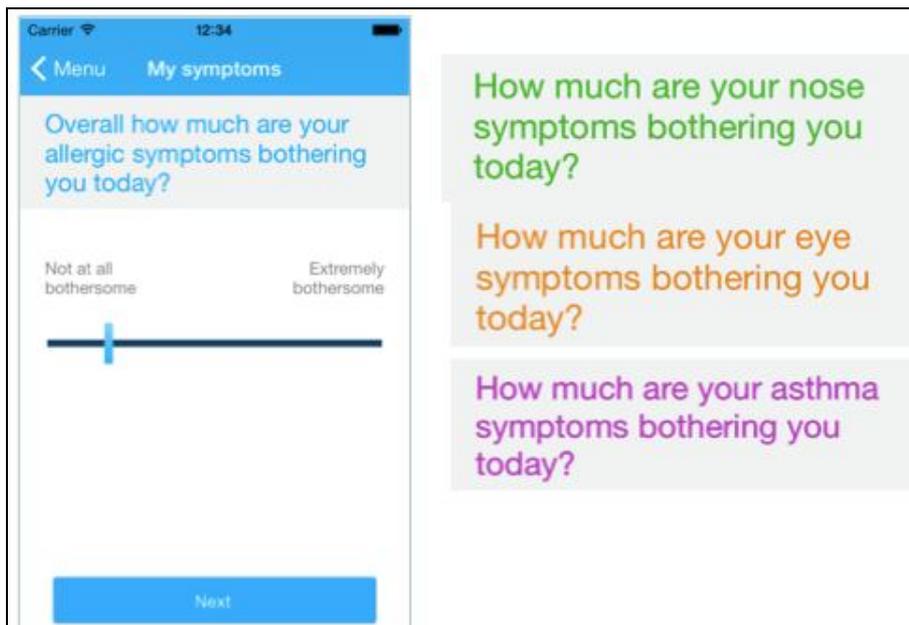


Figure 4: Screens on daily visual analogue scales

- **Clinical decision support system**

The MASK CDSS is incorporated into an app for HCPs (ARIA Allergy Diary Companion). It is an algorithm based on VAS to help clinicians select medications for patients with AR and to stratify their disease severity [27]. It uses a simple step-up/step-down individualized approach to AR pharmacotherapy.

**3. New concepts in allergic multimorbidity embedded in ARIA**

**Stratification of severe allergic and/or asthma patients**

Despite the major advances in understanding AR, treatments are not effective in all patients [31]. The aspiration is to provide more effective therapeutic interventions tailored to the individual using patient stratification with MASK.

Long-term birth cohort studies are essential for understanding the life course of allergic diseases (including asthma and rhinitis) and the complex interplay between genes and environment [32]. BAMSE (Barn Allergi Milj. Stockholm Epidemiologi Projektet) [33] and MeDALL (Mechanisms of the Development of ALLergy; EU FP7-CP-IP; Project No: 261357; 2010-2015) [34] identified a

rare but severe allergy phenotype: polysensitized-multimorbid phenotype confirmed in patient cohorts in children and adults [35-38]. These studies confirm that subjects who are polysensitized and multimorbid have a very high frequency of allergic symptoms, persistent symptoms over time, more severe asthma or rhinitis symptoms than other phenotypes and higher total and specific IgE levels.

Taken altogether, these results indicate that asthmatic patients cannot be managed appropriately without considering rhinitis multimorbidity. They reinforce the importance of nasal problems (rhinitis and/or rhinosinusitis) in many uncontrolled asthmatic patients [39, 40].

#### Allergic multimorbidity in old age adults

The expected epidemic wave of asthma and rhinitis in older adults is an insufficiently recognized problem. Older adults with asthma and rhinitis have specific symptoms and treatment needs. These patients also suffer from multimorbidity and high rates of polypharmacy are reported. ICPs for rhinitis and asthma should cover the entire life cycle.

#### 4. The scaling up strategy in Ukraine

There is an urgent need for scaling up strategies in order to (I) avoid fragmentation, (II) improve health care delivery across Europe, (III) speed up the implementation of good practices using existing cost-effective success stories and (IV) meet the EIP on AHA objectives [9]. This strategy has already been applied to the chronic respiratory diseases action plan of the EIP on AHA [12].

#### Conclusion

ARIA has evolved from a rigorously developed guideline to a mobile technology-based implementation strategy in order to provide an active and healthy life to rhinitis sufferers, whatever their age, sex or socio-economic status and with the aim to reduce health and social inequalities incurred globally by this very common disease.

#### Abbreviations

AIRWAYS ICPs: Integrated care pathways for airway diseases

AR: Allergic rhinitis

ARIA: Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma

CDSS: Clinical Decision Support System

DG: Directorate General

EIP on AHA: European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing

EU: European Union

FP: Framework Programme (EU)

GARD: WHO Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases

GRADE: Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation

HCP: Health Care Professional

ICP: Integrated care pathway

MACVIA-LR: contre les MALadies Chroniques pour un Vieillessement Actif (Fighting chronic diseases for active and healthy ageing)

MASK: MACVIA-ARIA Sentinel Network

MedDALL: Mechanisms of the Development of Allergy (EU FP7)

NCD: Non-communicable disease

RCT: Randomized controlled trial

RQLQ: Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire

SCUAD: Severe Chronic Upper Airway Disease

VAS: Visual analogue scale

WHO: World Health Organization

• Funding: European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing Reference Site MACVIA-France, EU Structural and Development Fund Languedoc-Roussillon, ARIA

#### References

1. Shekelle PG, Woolf SH, Eccles M, Grimshaw J. Clinical guidelines: developing guidelines. *Bmj.* 1999; 318 (7183):593-6.
2. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108(5 Suppl):S147-334.
3. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy.* 2008; 63 Suppl 86:8-160.
4. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126(3):466-76.
5. Padjas A, Kehar R, Aleem S, Mejza F, Bousquet J, Schunemann HJ, et al. Methodological rigor and reporting of clinical practice guidelines in patients with allergic rhinitis: QuGAR study. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133(3):777-83 e4.
6. Bousquet J, Schunemann HJ, Samolinski B, Demoly P, Baena-Cagnani CE, Bachert C, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130(5):1049-62.
7. Bousquet J, Addis A, Adcock I, Agache I, Agustí A, Alonso A, et al. Integrated care pathways for airway diseases (AIRWAYS-ICPs). *Eur Respir J.* 2014;44(2):304-23.
8. Bousquet J, Hellings PW, Agache I, Bedbrook A, Bachert C, Bergmann KC, et al. ARIA 2016: Care pathways implementing emerging technologies for predictive medicine in rhinitis and asthma across the life cycle. *Clin Transl Allergy.* 2016;6:47.
9. Bousquet J, Michel J, Standberg T, Crooks G, Iakovidis I, Gomez M. The European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing: the European Geriatric Medicine introduces the EIP on AHA Column. *Eur Geriatr Med.* 2014;5(6):361-2.
10. Bousquet J, Anto JM, Berkouk K, Gergen P, Antunes JP, Auge P, et al. Developmental determinants in non-communicable chronic diseases and ageing. *Thorax.* 2015;70(6):595-7.
11. Bousquet J, Barbara C, Bateman E, Bel E, Bewick M, Chavannes NH, et al. AIRWAYS-ICPs (European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing) from concept to implementation. *Eur Respir J.* 2016;47(4):1028-33.
12. Bousquet J, Farrell J, Crooks G, Hellings P, Bel EH, Bewick M, et al. Scaling up strategies of the chronic respiratory disease programme of the European Innovation Partnership on Active and Healthy Ageing (Action Plan B3: Area 5). *Clin Transl Allergy.* 2016;6:29.
13. Bousquet J, Bewick M, Cano A, Eklund P, Fico G, Goswami N, et al. Building Bridges for Innovation in Ageing: Synergies between Action Groups of the EIP on AHA. *J Nutr Health Aging.* 2017;21(1):92-104.
14. Kuehl BL, Abdunour S, O'Dell M, Kyle TK. Understanding the role of the healthcare professional in patient self-management of allergic rhinitis. *SAGE Open Med.* 2015; 3:2050312115595822.
15. ARIA in the pharmacy: management of allergic rhinitis symptoms in the pharmacy. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *Allergy.* 2004;59(4):373-87.
16. Canonica GW, Triggiani M, Senna G. 360 degree perspective on allergic rhinitis management in Italy: a survey of GPs, pharmacists and patients. *Clin Mol Allergy.* 2015; 13:25.
17. Meltzer EO, Farrar JR, Sennett C. Findings from an Online Survey Assessing the Burden and Management of Seasonal Allergic Rhinoconjunctivitis in US Patients. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2016.

18. Bousquet J, Annesi-Maesano I, Carat F, Leger D, Rugina M, Pribil C, et al. Characteristics of intermittent and persistent allergic rhinitis: DREAMS study group. *Clin Exp Allergy*. 2005; 35(6):728-32.
19. Bousquet PJ, Devillier P, Tadmouri A, Mesbah K, Demoly P, Bousquet J. Clinical Relevance of Cluster Analysis in Phenotyping Allergic Rhinitis in a Real-Life Study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015; 166(3):231-40.
20. del Cuvillo A, Montoro J, Bartra J, Valero A, Ferrer M, Jauregui I, et al. Validation of ARIA duration and severity classifications in Spanish allergic rhinitis patients – The ADRIAL cohort study. *Rhinology*. 2010; 48(2):201-5.
21. Calderon MA, Demoly P, Casale T, Akdis CA, Bachert C, Bewick M, et al. Allergy immunotherapy across the life cycle to promote active and healthy ageing: from research to policies: An AIRWAYS Integrated Care Pathways (ICPs) programme item (Action Plan B3 of the European Innovation Partnership on active and healthy ageing) and the Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases (GARD), a World Health Organization GARD research demonstration project. *Clin Transl Allergy*. 2016; 6:41.
22. Cruz AA, Popov T, Pawankar R, Annesi-Maesano I, Fokkens W, Kemp J, et al. Common characteristics of upper and lower airways in rhinitis and asthma: ARIA update, in collaboration with GA(2)LEN. *Allergy*. 2007; 62 Suppl 84:1-41.
23. Bousquet PJ, Devillier P, Tadmouri A, Mesbah K, Demoly P, Bousquet J. Clinical relevance of cluster analysis in phenotyping allergic rhinitis in a real-life study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;166(3):231-40.
24. Meltzer EO, Wallace D, Dykewicz M, Shneyer L. Minimal Clinically Important Difference (MCID) in Allergic Rhinitis: Agency for Healthcare Research and Quality or Anchor-Based Thresholds? *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(4):682-8 e6.
25. Bousquet J, Schunemann HJ, Fonseca J, Samolinski B, Bachert C, Canonica GW, et al. MACVIA-ARIA Sentinel Network for allergic rhinitis (MASK-rhinitis): the new generation guideline implementation. *Allergy*. 2015;70(11):1372-92.
26. Bourret R, Bousquet J, J M, T C, Bedbrook A, P D, et al. MASK rhinitis, a single tool for integrated care pathways in allergic rhinitis. *World Hosp Health Serv*. 2015;51(3):36-9.
27. Bousquet J, Schunemann HJ, Hellings PW, Arnavielhe S, Bachert C, Bedbrook A, et al. MACVIA clinical decision algorithm in adolescents and adults with allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(2):367-74 e2.
28. Bousquet J, Caimmi D, Bedbrook A, M Bewick, Hellings P, Devillier P, et al. Pilot study of mobile phone technology in allergic rhinitis in European countries. *The MASK-rhinitis study Allergy*. 2017:in press.
29. Konig HH, Bernert S, Angermeyer MC, Matschinger H, Martinez M, Vilagut G, et al. Comparison of population health status in six european countries: results of a representative survey using the EQ-5D questionnaire. *Med Care*. 2009;47(2):255-61.
30. Blanc PD, Trupin L, Eisner M, Earnest G, Katz PP, Israel L, et al. The work impact of asthma and rhinitis: findings from a population-based survey. *J Clin Epidemiol*. 2001;54(6):610-8.
31. Bousquet J, Bachert C, Canonica GW, Casale TB, Cruz AA, Lockett RJ, et al. Unmet needs in severe chronic upper airway disease (SCUAD). *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(3):428-33.
32. Bousquet J, Anto J, Sunyer J, Nieuwenhuijsen M, Vrijheid M, Keil T, et al. Pooling birth cohorts in allergy and asthma: European Union-funded initiatives – a MeDALL, CHICOS, ENRIECO, and GA(2)LEN joint paper. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161(1):1-10.
33. Westman M, Lupinek C, Bousquet J, Andersson N, Pahr S, Baar A, et al. Early childhood IgE reactivity to pathogenesis-related class 10 proteins predicts allergic rhinitis in adolescence. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(5):1199-206 e1-11.
34. Bousquet J, Anto JM, Akdis M, Auffray C, Keil T, Momas I, et al. Paving the way of systems biology and precision medicine in allergic diseases: The MeDALL success story. *Allergy*. 2016.
35. Burte E, Bousquet J, Varraso R, Gormand F, Just J, Matran R, et al. Characterization of Rhinitis According to the Asthma Status in Adults Using an Unsupervised Approach in the EGEA Study. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136191.
36. Siroux V, Lupinek C, Resch Y, Curin M, Just J, Keil T, et al. Specific IgE and IgG measured by the MeDALL allergen-chip depend on allergen and route of exposure: The EGEA study. *J Allergy Clin Immunol*. 2016.
37. Just J, Elegbede CF, Deschildre A, Bousquet J, Moneret-Vautrin DA, Crepet A, et al. Three peanut allergic/sensitized phenotypes with gender difference. *Clin Exp Allergy*. 2016.
38. Zoratti EM, Krouse RZ, Babineau DC, Pongracic JA, O'Connor GT, Wood RA, et al. Asthma phenotypes in inner-city children. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(4):1016-29.
39. Bresciani M, Paradis L, Des Roches A, Vernhet H, Vachier I, Godard P, et al. Rhinosinusitis in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107(1):73-80.
40. ten Brinke A, Grootendorst DC, Schmidt JT, De Bruine FT, van Buchem MA, Sterk PJ, et al. Chronic sinusitis in severe asthma is related to sputum eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(4):621-6.

*Матеріал надійшов до редакції 01.12.2017*

## КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Багмут І.Ю., Граматюк С.М.

УДК 616.36-002.-022-008.9:(612.826.33.015.22 + 577.112.853 + 546.172.6)

### ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ БІОМАРКЕРІВ ДИСБАЛАНСУ МІЖ ЕНЕРГЕТИЧНИМ І ПЛАСТИЧНИМ ПОТЕНЦІАЛАМИ, ДЛЯ ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМУ РОЗВИТКУ ПЕЧІНКОВОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ВІРУСНОМУ ГЕПАТИТІ С\*

Багмут І.Ю., Граматюк С.М.

Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків

*Обследовано 73 больных хроническим вирусным гепатитом С, которые проходили плановое обследование в Медико-Диагностическом центре АСК-Хелс г. Харьков. Всем больным проводили типирование вирусного гепатита генетически, установлено наличие 3 генотипов HCV-инфекции: За генотип был диагностирован у 13 больных, 2 генотип - 11, наибольшую группу составили пациенты с 1b генотипом вируса - 49. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц, не имевших в анамнезе болезней печени. Активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы в лимфоцитах пациентов с ХВГС и явлениями печеночной энцефалопатии (n = 11) достоверно (p ≤ 0,01) выше - в 2,3 раза - по сравнению с группой контроля. Установленный метаболизм фосфотриоз в клетках крови, вероятно, позволяют предположить преимущественное использование фосфотриоз и нейрон-специфической енолазы для энергообмена и продукции АТФ, то есть можно считать возможным наличие дисбаланса между энергетическим и пластическим потенциалами в клетках крови больных хроническим вирусным гепатитом С, особенно в эритроцитах.*

**Ключевые слова:** печеночная энцефалопатия, вирусный гепатит С, пластический потенциал.

Хронічні захворювання печінки та цироз печінки зареєстровано у 1,2 мільйона чоловік в Україні та сотні мільйонів людей у всьому світі. З значним збільшенням частоти метаболічного синдрому у всьому світі, вірусні гепатити супроводжуються поступовим наростанням печінкової енцефалопатії. Імовірність розвитку ускладнень при гепатиті С складає 20% випадків [1]. У більшості хворих на цироз печінки виникають ускладнення, пов'язані з портальною гіпертензією. Одним з таких рецидивуючих і важко виліковним ускладненням є печінкова енцефалопатія (ПЕ). Дослідження показали, що на печінкову енцефалопатію страждає від 30 до 45% пацієнтів з цирозом [2, 3].

Печінкова енцефалопатія або портосистемна енцефалопатія є синдромом значною мірою оборотного порушення функції головного мозку, що виникає у пацієнтів з гострою або хронічною печінковою недостатністю або коли печінка обминається портосистемними шунтами. Це призводить до спектру неврологічних порушень, починаючи від субклінічної дисфункції мозку до коми. Механізми, що викликають цю дисфункцію мозку, все ще залишаються в основному незрозумі-

лими [4, 5]. Класифікують печінкову енцефалопатію за даними робочої групи 11-го Всесвітнього конгресу гастроентерології, (Відень), на три типи. На підставі захворювання печінки, однією з груп є вірусний гепатит.

Одним з перспективних напрямків, що дозволяють охарактеризувати патофізіологічні механізми розвитку енцефалопатії при вірусних гепатитах в організмі, є дослідження особливості метаболічних процесів клітин. Пов'язано це з тим, що всі зміни клітинної генетичної програми реалізуються, в тому числі і через метаболічні процеси. При цьому великий інтерес представляє вивчення метаболізму не тільки гепатоцитів, але і клітин периферійної крові. Це обумовлено тим, що дисметаболічні процеси в клітинах крові викликають розвиток їх дисфункції [3 - 5].

Відомо, що одним з потужних ланок розвитку печінкової енцефалопатії з подальшим розвитком печінкової коми є цироз. Таким чином, можемо припустити, що дисметаболічні процеси в еритроцитах і їх дисфункція можуть опосередковувати порушення мікроциркуляції, тим самим сприяти прогресії цирозу та, як наслідок, розвитку печінкової енцефалопатії [6 - 8].

\* Цитування при атестації кадрів: Багмут І.Ю., Граматюк С.М. Прогностичне значення біомаркерів дисбалансу між енергетичним і пластичним потенціалами, для вивчення механізму розвитку печінкової енцефалопатії при хронічному вірусному гепатиті С // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 15–18.

У роботах деяких авторів було встановлено, що дисметаболичні процеси в лімфоцитах прямо корелюють з розвитком їх дисфункції, зокрема зі зниженням індексу бласттрансформації, реакцій розеткоутворення [9-11].

Ферменти, відібрані для цього дослідження каталізують різні шляхи використання гліколізу - як енергоутворюючих, так і пластичних (споживання гліцерин-3-фосфату для синтезу фосфоліпідів, що будують клітинні мембрани). Для енергообміну еритроцита гліколіз має центральне значення. Відомо, що дисбаланс пулу аденілат, дефіцит АТФ, ведуть до збільшення агрегаційної здатності еритроцитів, порушення пластичних процесів, зниження їх деформування, підвищенню жорсткості мембран. У лімфоцитах порушуються функції Т-лімфоцитів, такі як проліферація, цитотоксичність [13-15].

Одним із суперечливих з діагностичної точки зору є фермент нейронспецифічна енолаза (НСЕ). З літературних даних [16] відомо, що НСЕ - один з ферментів гліколізу (2-фосфо-D-гліцерато-гідроліаза), існуючий у вигляді декількох димеризованих ізоферментів (aa, ab, ay, bb і уу), утворених з трьох субодиниць - a, b і y. Накопичено великий експериментальний і клінічний матеріал, що стосується аналізу НСЕ в біологічних рідинах при різних патологічних станах. Нейронспецифічна енолаза є єдиним відомим в даний час загальним маркером всіх диференційованих нейронів і відноситься до внутрішньоклітинних ензимів центральної нервової системи [13 - 16]. Однак на сьогодні не існує комплексного вивчення даного ферменту у хворих на хронічний вірусний гепатит С, як маркера печінкової енцефалопатії.

Таким чином, аналіз сучасного стану проблеми діагностики розвитку печінкової енцефалопатії у хворих на хронічний вірусний гепатит С, показав значну варіабельність підходів за даним питанням, що при достатньо помірних успіхах свідчить про актуальність наукового пошуку за цим напрямом. Зокрема визначається гострий дефіцит надійних способів вибору індивідуалізованої програми комплексного лікування, діагностики та прогнозу печінкової енцефалопатії у хворих на хронічний вірусний гепатит С. Розв'язання цієї проблеми потребує екстенсивного підходу, що включав би тестування і валідацію біомаркерів, придатних для прогнозування ризику розвитку печінкової енцефалопатії при вірусному гепатиті С.

Мета дослідження – визначення предиктивно-прогностичних біомаркерів дисбалансу між енергетичним і пластичним потенціалами в клітинах крові хворих на хронічний вірусний гепатит С.

## Матеріали та методи дослідження

Як об'єкт дослідження було обрано три групи хворих з хронічним вірусним гепатитом С, в залежності від генотипа вірусу та наявності печінкової енцефалопатії. Обстежено 73 хворих на хронічний вірусний гепатит С, 20 осіб контрольної групи були здорові. Пацієнтів відбирали на підставі їх стабільного клінічного стану протягом останніх 3 місяців. HCV-інфекція була діагностована позитивністю тестів - анти-HCV і HCV-RНК протягом щонайменш 6 місяців.

Протокол дослідження було проведено у відповідності до Гельсінської декларації, переглянутої у 1989 році. Всі обстежені пацієнти були поінформовані про дослідження та дали письмову згоду.

Нами була досліджена активність ферментів що утилізують фосфотріози (гліцерин-3-фосфатдегідрогенази (ГЗД) і глицеральдегід-3-фосфатдегідрогенази (ГАФД)). Активність ГАФД і ГЗД визначалася швидкістю відновлення NAD<sup>+</sup>, який бере участь у відповідних реакціях як акцептор атомів водню. Дія цих ферментів була виражена в нмоль / хв. • л. Концентрація білка була визначена методом Лоурі.

Визначення вмісту нейрон-специфічної енолази в сироватці крові проводили за допомогою Human Neuron Specific Enolase ELISA Kit (Alpha diagnostic, USA) відповідно до інструкції виробника.

Концентрація АТФ в суспензії еритроцитів була визначена методом ПН. Yaverbaum et al., Концентрації ADP і AMF by H.U. Бергмейер [7-10].

Незалежний (непарний) t-тест Student (двотавровий) був обраний для перевірки значущості відмінностей серед засобів малих "n" вибірок множин.

## Результати та їх обговорення

В еритроцитах пацієнтів хворих на хронічний вірусний гепатит С, було встановлено достовірне зниження активності гліцерин-3-фосфатдегідрогенази ( $p \leq 0,005$ ) ферменту, що каталізує утворення гліцерин-3-фосфату, який виступає в ролі проміжного з'єднання в біосинтезі тригліцеридів. Як ми бачимо з таблиці 1, вона знижена в середньому в 1,5 рази у хворих усіх груп, в порівнянні з контролем.

Активність глицеральдегід-3-фосфатдегідрогенази, що характеризує інтенсивність гліколітичного розщеплення глюкози, навпаки, була достовірно підвищена ( $p \leq 0,01$ ) (таблиця 1). Це пов'язано з переважним споживанням гліколітичних фосфометаболітів в процесах енерго-продукції, тобто гліколітичному синтезі АТФ. До того ж, це може свідчити про підвищення потреби клітини в 2,3-бісфосфогліцерате, який забезпечує процес передачі кисню в тканини.

Таблиця 1  
Активність гліцерин-3-фосфатдегідрогенази і глицеральдегід-3-фосфатдегідрогенази в еритроцитах крові у пацієнтів хворих на хронічний вірусний гепатит С.

Показник	ХВГС генотип 1b (n=49)	ХВГС генотип 2 (n=11)	ХВГС генотип 3a (n=13)	Контрольна група (n=20)
Активність ГЗД в еритроцитах нмоль/мин·л	6,83±0,05*	5,32±0,45*	5,7±0,15*	12,25±1,13
Активність ГАФД в еритроцитах нмоль/мин·л	5,75±0,08*	8,95±0,6*	7,29±0,26*	5,16±0,27

Примітка: \*  $p < 0,001$  в порівнянні з групою контролю

Встановлено, що в еритроцитах пацієнтів хворих на хронічний вірусний гепатит С достовірно ( $p \leq 0,01$ ) підвищена активність ГАФД в 2,3 рази, в порівнянні з нормою. При порівнянні пацієнтів з різними генотипами не встановлено різниці між групами, однак нами

встановлено достовірні відмінності між хворими з явищами печінкової енцефалопатії та без неї. Таким чином, в ході дослідження було виявлено, що у хворих на хронічний вірусний гепатит С, посилюється використання фосфотріоз в гліколізі.



Нами були проведені дослідження активності да-них ферментів у лімфоцитах крові. У таблиці 2 наведе-ні результати активності ГЗФД і гліцерин-3-фосфат-дегідрогенази в лімфоцитах. Таким чином, в еритро-цитах і лімфоцитах крові встановлена загальна тен-денція до зниження активності гліцерин-3-фосфат-дегідрогенази, проте найбільш виражені зміни спо-

стерігаються в еритроцитах крові. Активність глице-ральдегід-3-фосфатдегідрогенази в лімфоцитах ви-ще в порівнянні з групою контролю (в нормі активність глицеральдегід-3-фосфатдегідрогенази склала  $0,69 \pm 0,02$  нмоль / хв • л), проте, ці зміни не настільки знач-но виражені, як в еритроцитах.

Таблиця 2.

Активність гліцерин-3-фосфатдегідрогенази і глицеральдегід-3-фосфатдегідрогенази в лімфоцитах крові у хворих на хронічний вірусний гепатит С.

Показник	ХВГС з явищами печінкової енцефалопатії (n=11)	ХВГС при відсутності печінкової енцефалопатії (n=21)	Норма (n=20)
Активність ГЗД в лімфоцитах нмоль/мин·л	1,10±0,03*	1,16±0,05*	1,55±0,15
Активність ГАФД в лімфоцитах нмоль/мин·л	2,95±0,03*	3,29±0,02*	0,69±0,02

Примітка: \*  $p < 0,001$  в порівнянні з групою контролю

Причому наростання активності ГАФДГ можна пов'язувати не тільки з підвищенням потреби еритроцита в АТФ, а й зі збільшенням продукції 2,3 діфосфогліцерата, необхідного для вступу кисню до тканин у пацієнтів з явищами печінкової енцефалопатії. Паралельне зниження активності ГЗФДГ підтверджує припущення про наростання енергетичних потреб клітини.

Підтвердженням наших висновків є результати до-слідження аденілових нуклеотидів. У зв'язку з вище-викладеним, представляло інтерес, вивчення рівню аденілових нуклеотидів (аденозінтрифосфат (АТФ), аденозіндіфосфат (АДФ), аденозінмонофосфат (АМФ) - як маркерів енергетичного дефіциту у хворих на хронічний вірусний гепатит С в залежності від наявно-сті печінкової енцефалопатії. При аналізі виявлено, що у хворих з проявами печінкової енцефалопатії від-бувається статистично значуще зниження ( $p < 0,001$ ) в еритроцитах вмісту АТФ в середньому на 53,5% в по-рівнянні з контролем. Приблизно така ж динаміка спо-

стерігалася у пацієнтів з генотипом вірусу 1b, а саме зниження відмічалось на 39% при порівнянні з кон-трольними значеннями. Групи пацієнтів з генотипами 2 та 3а при відсутності проявів печінкової енцефалопатії не мали між собою достовірної різниці.

За вмістом АТФ групи хворих при наявності печін-кової енцефалопатії та без неї, також достовірно від-різнялися. Слід зазначити, що на цьому тлі зміст АДФ у хворих з явищами печінкової недостатності мав те-нденцію до зниження, а у хворих на хронічний вірус-ний гепатит С при її відсутності, навпаки, визначалося статистично значуще ( $p < 0,001$ ) підвищення на 22% в порівнянні з контролем. Рівень АМФ в разі наявності печінкової енцефалопатії в порівнянні з контрольною групою, достовірно зменшувався на 90%. При відсут-ності печінкової недостатності спостерігалось досто-вірне ( $p \leq 0,05$ ) зниження АМФ - майже в 2,5 рази в по-рівнянні з контролем.

Таблиця 3

Вміст аденілових нуклеотидів у обстежуваних хворих в залежності від наявності печінкової енцефалопатії (Ме [25%; 75%])

Група хворих	Показник	АТФ, ммоль/л	АДФ, ммоль/л	АМФ, ммоль/л
ХВГС з явищами печінкової енцефалопатії		1,38 * [1,27; 1,50]	1,36*^ [1,24; 1,51]	1,64*^ [1,53; 1,70]
ХВГС при відсутності печінкової енцефалопатії		1,42±0,13*	0,81 * [0,70;08]	1,10 * [1,03; 1,14]
Контроль		2,25 [2,10; 2,2]	1,01 [0,93; 1,08]	0,58 [0,52; 0,69]

Примітка: \*  $p < 0,001$  в порівнянні з групою контролю, ^  $p < 0,001$

Передбачається, що порушення біоенергетичних процесів є одним з пускових механізмів розвитку печін-кової енцефалопатії вірусної етіології [13-17]. В ре-зультаті мітохондріальної дисфункції, виникає дефі-цит макроергів викликає погіршення роботи енергоза-лежних мембранних каналів, зокрема  $Na^+ - K^+$ -АТФ обмінників,  $Ca^{2+}$ -АТФ обмінників, що призводить до депонування іонів  $Ca^{2+}$  в цитозолі, з наступною акти-вацією  $Ca^{2+}$  залежної ферментної ефекторної стадії апоптозу. Прогресуючий енергодефіцит перемикає енергетичний метаболізм на гліколіз, внаслідок чого відбувається накопичення недоокислених продуктів жирних кислот - ацил-КоА, ацетил-КоА, НАДН • Н з пригніченням піруватдегідрогенази, зниженням утилі-зації пірувату і перетворенням його в лактат.

У контрольній групі показники НСЕ становили  $7,89 \pm 0,81$  нг/мл тоді як, рівні у хворих на хронічний ві-русний гепатит С дорівнювали  $12,97 \pm 0,85$  нг/мл, що становить майже 65,3%. Достовірно ( $p \leq 0,05$ ) збільше-ний вміст НСЕ частіше 83% хворих, реєстрували у пацієнтів з явищами печінкової енцефалопатії, що можливо свідчить про пошкодженням нейронів мозку у пацієнтів з енцефалопатією вірусного генезу. Однак причина цього в даний момент повністю не ясна і ви-магає нашого подальшого вивчення. Імовірною при-чиною цієї тенденції можуть бути також, кількісні або певні функціональні відмінності в гальмівних синап-сах, основною роллю яких є захист нейронів від гіпер-збудливості.

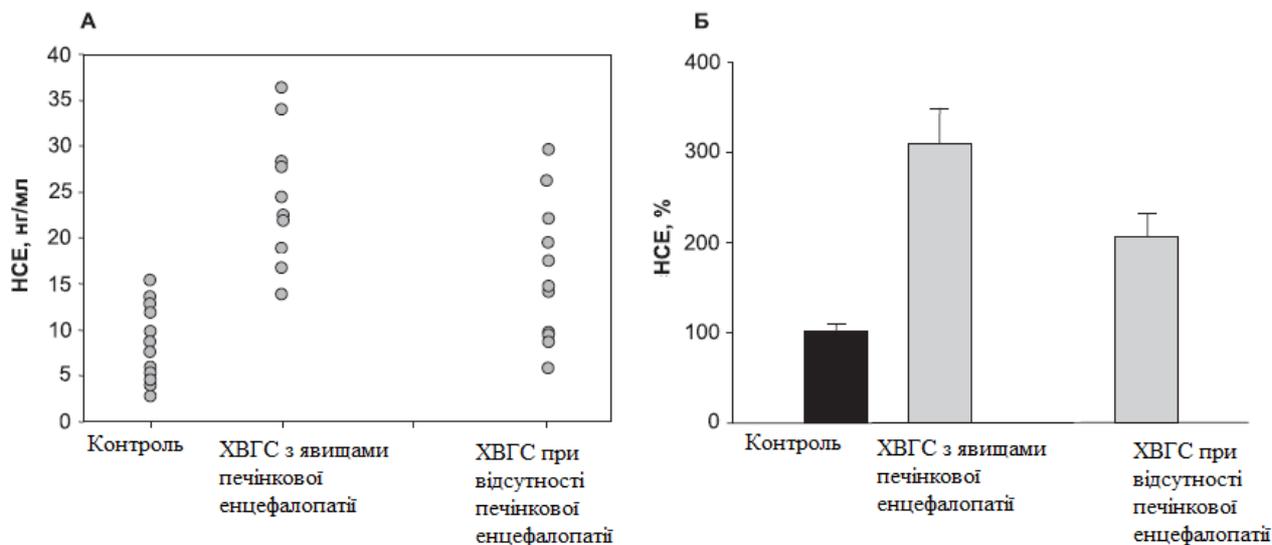


Рисунок 1. Рівні нейронспецифічної енолази у хворих на хронічний вірусний гепатит С в залежності від наявності печінкової енцефалопатії.

В умовах неповної ішемії або при спробі неадекватної реперфузії відбувається подальше постачання до мозку енергетичного субстрату (глюкози) для анаеробного гліколізу, а це веде до посилення лактоацидоза і поглиблення ураження нейронів. Дослідження даного питання потребує подальшого детального підходу в вивченні, що є перспективою нашого подальшого дослідження.

**Висновки.** Встановлення зміни метаболізму фосфотріоз в клітинах крові, ймовірно, дозволяють припустити переважне використання фосфотріоз та нейрон-специфічної енолази для енергообміну і продукції АТФ, тобто можна вважати можливим наявність дисбалансу між енергетичним і пластичним потенціалами в клітинах крові хворих на хронічний вірусний гепатит С, особливо в еритроцитах.

### Література

1. Sanyal A.J., Mullen K.D., Bass N.M. The treatment of hepatic encephalopathy in the cirrhotic patient. // *Gastroenterol Hepatol.* - 2010. - Т. - 6. - P. (4 Suppl 8):1-12.
2. Bismuth M., Funakoshi N., Cadranet J.F. Hepatic encephalopathy: From pathophysiology to therapeutic management. // *Eur J Gastroenterol Hepatol.* - 2011. - Т.23. - P. 8-22.
3. Butterworth R.F. Editorial: Rifaximin and minimal hepatic encephalopathy. // *Am J Gastroenterol.* - 2011. - Т.106. - P: 317-328.
4. Seyan A.S., Hughes R.D., Shawcross D.L. Changing face of hepatic encephalopathy: Role of inflammation and oxidative stress. // *World J Gastroenterol.* - 2016. - Т.16. - P.3347-3357.
5. McPhail M.J. Pathogenesis and diagnosis of hepatic encephalopathy. / McPhail M.J., Bajaj J.S., Thomas H.C., Taylor-Robinson S.D. // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* - 2017. - Т.4. - P. 365-378.
6. Бакурова О. М., Борзенко Б. Г., Миронова К. О. Порухення обміну клітин крові при раці шлунка // *Перспективи медицини та біології.* - 2011. - Т. 3, № 1. - С.45-46.
7. Бакурова О. М., Попович О. Ю., Миронова К. О. и др. Зміни активності аденозіндезамінази при підвищеному

онкоризику та карциномах різної локалізації // *Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина».* - Выпуск 3 (42). - 2011. - С. 19- 23.

8. Борзенко Б.Г., Жебеленко Я.Г., Зуйков С.О. и др. Особенности системы антирадикальной защиты и углеводный обмен эритроцитов у больных язвенной болезнью // *Загальна патологія та патологічна фізіологія.* - 2010. - Т.5, № 3. -С.186 - 189.
9. Коржов В.И., Жадан В.Н., Коржов М.В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // *Журн. АМНУ.* - 2007. - Т.13, № 1. - С. 3-19.
10. Лишневская В.Ю., Дужак Г.В. Эритроциты при старении // *Материали IV національного конгресу геронтологів і гериатрів України, 11-13 жовтня 2005 р., м. Київ. - Проблемы старения и долголетия.* - 2005. - Т.14 (приложение). - С. 157 - 158.
11. Страшок Л.А. Оксидативный стресс и гормональный статус у подростков с дуоденальной язвой // *Международный медицинский журн.* - 2008. - №1. - С. 88-91.
12. Nilsson E. Incidence, clinical presentation and mortality of liver cirrhosis in Southern Sweden: a 10-year population-based study. / Nilsson E., Anderson H., Sargenti K., Lindgren S., Prytz H. // *Alimentary pharmacology & therapeutics.* - 2016. - Т. 43(12). - P. 1330-1339.
13. Vandenbulcke H. Alcohol intake increases the risk of HCC in hepatitis C virus-related compensated cirrhosis: A prospective study. / Vandenbulcke H., Moreno C., Colle I., Knebel J.F., Francque S., Serste T., et al. // *Journal of hepatology.* - 2016. - Т. 51(6). - P.1972-1978.
14. Jepsen P., Vilstrup H., Andersen P.K. The clinical course of cirrhosis: The importance of multistate models and competing risks analysis. // *Hepatology.* - 2015. - Т. 62(1). - P. 292-302. doi: 10.1002/hep.27598.
1. 15 Kuk D., Varadhan R. Model selection in competing risks regression. // *Statistics in medicine.* - 2013. - Т. 32(18). - P. 3077-3088. doi: 10.1002/sim.5762.
15. Féray C. Is HCV infection a neurologic disorder? // *Gastroenterology.* - 2012. - Т.142. - P. 428-431.
16. Monaco S. HCV-related nervous system disorders. / Monaco S., Ferrari S., Gajofatto A., Zanusso G., Mariotto S. // *Clin Dev Immunol.* - 2012. - Т. 2012:23. - P. 6148 - 6153.

## ENGLISH VERSION: THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF BIOMARKERS FOR THE IMBALANCE BETWEEN ENERGY AND PLASTIC POTENTIALS FOR LEARNING THE MECHANISM OF DEVELOPMENT OF HEPATIC ENCEPHALOPATHY IN CHRONIC VIRAL HEPATITIS C\*

I.Yu. Bagmut, S.M Gramatiuk

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

Department of Clinical Pathophysiology, Topographic Anatomy and surgical surgery

*We examined 73 patients with chronic viral hepatitis C who underwent a routine examination at the Medical Diagnostic Center ASK-Health in Kharkiv. All patients underwent virus genotyping, 3 genotypes of HCV-infection were detected: 3a genotype was diagnosed in 13 patients, 2 genotypes – in 11, the largest group was made up of patients with 1b genotype of the virus - 49. The control group included 20 practically healthy persons who did not have the history of liver disease. The activity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in lymphocytes of patients with chronic viral hepatitis C and the phenomena of hepatic encephalopathy (n = 11) is reliably (p<0.01) higher - by 2.3 times - as compared with the control group. Establishing a change in the metabolism of phosphotriose in blood cells probably suggests the predominant use of phosphotriose and neuron-specific enolase for energy metabolism and ATP production, that is, it is possible to assume that there is an imbalance between the energy and plastic potentials in the blood cells of patients with chronic viral hepatitis C, especially in erythrocytes.*

**Key words:** hepatic encephalopathy, viral hepatitis C, plastic potential.

### Introduction

Chronic liver and liver cirrhosis are registered in 1.2 million people in Ukraine and hundreds of millions of people around the world. With a significant increase in the frequency of metabolic syndrome around the world, viral hepatitis is accompanied by a gradual increase in liver encephalopathy. The probability of developing complications in hepatitis C is 20% of cases [1]. Studies have indicated that overt hepatic encephalopathy affects 30 to 45% of patients with cirrhosis and a higher percentage may be affected by minimal degree of encephalopathy [2, 3].

Hepatic encephalopathy or portosystemic encephalopathy is a syndrome of largely reversible impairment of brain function occurring in patients with acute or chronic liver failure or when the liver is bypassed by portosystemic shunts. The mechanisms causing this brain dysfunction are still largely unclear [4, 5]. Hepatic encephalopathy is classified according to the data of the working group of the 11<sup>th</sup> World Congress of Gastroenterology, Vienna, in three types, based on liver disease; one of the groups is viral hepatitis.

One of the perspective directions that allow characterizing the pathophysiological mechanisms of the development of encephalopathy in viral hepatitis in the body is the study of the peculiarities of metabolic processes in cells. This is due to the fact that all changes in the cellular genetic program are realized, including through metabolic processes. In this case, of great interest is the study of metabolism not only hepatocytes, but also peripheral blood. This is due to the fact that dysmetabolic processes in blood cells cause development of their dysfunction [3 - 5].

It is known that one of the most powerful links in the development of hepatic encephalopathy with the further development of the hepatic coma is cirrhosis. Thus, we can assume that dysmetabolic processes in erythrocytes and their dysfunction can mediate microcirculation disorders, thereby contributing to the progression of cirrhosis

and as a consequence of the development of hepatic encephalopathy [6 - 8].

In the works of some authors it was found that dysmetabolic processes in lymphocytes directly correlate with the development of their dysfunction, in particular, with the decrease of the blast-transformation index, and the reactions of the sockets [9-11].

Enzymes selected for this study catalyzed various ways of using glycolysis - both energy-forming and plastic (consumption of glycerol-3-phosphate for the synthesis of phospholipids that build cell membranes). For energy exchange of erythrocyte glycolysis has a central significance. It is known that the imbalance of the adenylate pool, the deficiency of ATP, leads to an increase in the aggregation capacity of erythrocytes, damage to plastic processes, reducing their deformation, and increasing the rigidity of membranes. In lymphocytes, T-lymphocyte function, such as proliferation, cytotoxicity [13-15], is disturbed.

One of the diagnostic controversies is the enzyme neuron-specific enolase (NSE). From the literature [16] it is known that NSE is one of the enzymes of glycolysis (2-phospho-D-glycerate-hydrolyzase), which exists in the form of several dimerized isoenzymes (aa, ab, ay, bb and yy), formed from three subunits - a, b and y. A great experimental and clinical material has been accumulated concerning the analysis of NSE in biological fluids at various pathological conditions. The neuron-specific enolase is the only commonly known marker for all differentiated neurons and refers to intracellular enzymes of the central nervous system [13-16].

However, today there is no comprehensive study of this enzyme in patients with chronic viral hepatitis C as a marker of liver encephalopathy.

The aim of the study is to determine the predictive and prognostic biomarkers of the imbalance between the energy and plastic potentials in the blood cells of patients with chronic viral hepatitis C.

\* To cite this English version: I.Yu. Bagmut, S.M Gramatiuk. The prognostic significance of biomarkers for the imbalance between energy and plastic potentials, for learning the mechanism of development of hepatic encephalopathy in chronic viral hepatitis C // *Problemy ekologii ta medytsyny*. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 19–22.

**Material and Methods**

The 73 HCV+ patients and 20 healthy controls were enrolled in the present cross-sectional study. The patients were selected on the basis of their stable clinical condition over the past 3 months. HCV infection was diagnosed by the positivity of anti-HCV and HCV-RNA for at least 6 months of period.

The study protocol was carried out in accordance with the Helsinki Declaration as revised in 1989. All subjects were informed about the study and the written consent was obtained from each one.

We investigated the activity of enzymes utilizing phosphotriose (glycerol-3-phosphate dehydrogenase (G3D) and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAFD)). The activity of GAFD and G3D was determined by the rate of recovery of NAD<sup>+</sup>, which participates in the corresponding reactions as an acceptor of hydrogen atoms. The activity of these enzymes was expressed in nmol / min • l. Concentration of the protein was determined by Lowry's method.

The determination of the content of neuron-specific enolase in serum was carried out using the Human Neuron Specific Enolase ELISA Kit (Alpha Diagnostic, USA) according to the manufacturer's instructions.

The concentration of ATP in the erythrocyte suspension was determined by the PN method. Yaverbaum et al., Concentrations of ADP and AMP by H.U. Bergmeyer [7-10].

An independent (unpaired) Student's t-test (two-tailed) was chosen to test the significance of differences among means of small "n" sample sets.

**Results and discussion**

On the contrary, the activity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, which characterizes the intensity of glycolytic glucose splitting, was significantly increased (p<0,01). This is due to the predominant consumption of glycolytic phosphometabolites in the process of energy production that is glycolytic synthesis of ATP. In addition, this may indicate an increase in the needs of the cell in 2,3-bisphosphoglycerate, which provides the process of transferring oxygen to the tissue.

The activity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in lymphocytes is higher compared with the control group (normal activity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase was 0.69±0.02 nmol / min • l), however, these changes are not so pronounced as in erythrocytes.

*Table 1  
The activity of glycerol-3-phosphate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in blood red blood cells in patients with chronic viral hepatitis C.*

Index	HCV-infection Genotype 1b (n=49)	HCV-infection Genotype 2 (n=11)	HCV-infection Genotype 3a (n=13)	Control group (n=20)
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase v nmol / min • l	6,83±0,05*	5,32±0,45*	5,7±0,15*	12,25±1,13
activity of GAFD nmol / min • l	5,75±0,08*	8,95±0,6*	7,29±0,26*	5,16±0,27

Note: \* p < 0.001 in comparison with the control group

It was established that in erythrocytes of patients with chronic viral hepatitis C, the activity of GAFD in 2.3 level, compared with norm, was significant (p<0.01). When comparing patients with different genotypes, there is no difference between the groups, but we have established a significant difference between patients with and without liver encephalopathy. Thus, during the study, it was found that in patients with chronic viral hepatitis C, increased use of phosphotriose in glycolysis.

There is an in the control group, the neuron-specific enolase values were 7.89±0.81 ng / ml while in patients with chronic viral hepatitis C it was 12.97±0.85 ng / ml, which is almost 65.3%. Relatively (p<0.05) increased neuron-specific enolase content in more than 83% of

patients was recorded in patients with liver encephalopathy, which may indicate a brain neuronal damage in patients with viral glandular encephalopathy.

In the analysis, it was found that in patients with manifestations of hepatic encephalopathy, a statistically significant decrease (p<0.001) in erythrocytes of ATP content was observed on average by 53.5% compared with control. Approximately, the same dynamics was observed in patients with the genotype 1b, namely a decrease of 39% when compared with control values. Groups of patients with genotypes 2 and 3a in the absence of manifestations of hepatic encephalopathy did not have a significant difference between them.

*Table 2  
The activity of glycerol-3-phosphate dehydrogenase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in blood lymphocytes in patients with chronic viral hepatitis C.*

Index	HCV-infection and hepatic encephalopathy (n=11)	HCV-infection and did not hepatic encephalopathy (n=21)	Control group (n=20)
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in lymphocytes nmol / min • l	1,10±0,03*	1,16±0,05*	1,55±0,15
activity of GAFD in lymphocytes nmol / min • l	2,95±0,03*	3,29±0,02*	0,69±0,02

Note: \* p < 0.001 in comparison with the control group

The content of ATP in the group of patients with and without liver encephalopathy also significantly differed. It should be noted that in this context, the maintenance of ADP in patients with liver failure phenomena tended to decrease, and in patients with chronic viral hepatitis C in its absence, on the contrary, a statistically significant in-

crease (p < 0,001) was determined by a 22% increase compared with control. The level of AMP in the presence of hepatic encephalopathy compared with the control group, significantly decreased by 90%. In the absence of hepatic insufficiency there was a significant (p<0.05) reduction by AMP - almost 2.5 times compared to control.

Table 3  
The content of adenine nucleotides in the patients under examination, depending on the presence of hepatic encephalopathy (Me [25%; 75%])

Group of patients	ATP mmol/l	ADP, mmol/l	AMP, mmol/l
HCV-infection and hepatic encephalopathy (n=11)	1,38 * [1,27; 1,50]	1,36*^ [1,24; 1,51]	1,64*^ [1,53; 1,70]
HCV-infection and did not hepatic encephalopathy (n=21)	1,42±0,13*	0,81 * [0,70;08]	1,10 * [1,03; 1,14]
Control group (n=20)	2,25 [2,10; 2,2]	1,01 [0,93; 1,08]	0,58 [0,52; 0,69]

Note: \*  $p < 0.001$  in comparison with the control group

It is assumed that the disruption of bioenergetic processes is one of the triggers of the development of hepatic encephalopathy of viral etiology [13]. As a result of mitochondrial dysfunction, the lack of macroergues causes the deterioration of the work of energy-dependent membrane channels, in particular  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  exchangers,  $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$  exchangers, which leads to the deposit of

$\text{Ca}^{2+}$  ions in the cytosol, followed by activation of  $\text{Ca}^{2+}$  dependent enzyme effector stage apoptosis. The progressive energy deficit switches the energy metabolism to glycolysis, resulting in the accumulation of low oxidized fatty acid products - acyl CoA, acetyl CoA,  $\text{NADH} \cdot \text{N}$  with inhibition of pyruvate dehydrogenase, decreased utilization of pyruvate and its transformation into lactate.

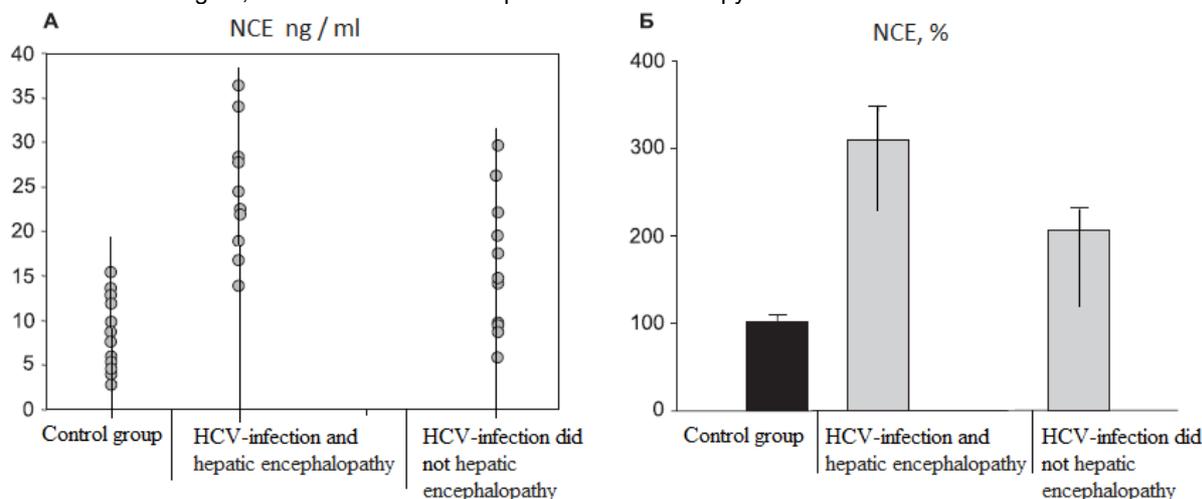


Figure 1. Levels of neuronspecific enolase in patients with chronic viral hepatitis C, depending on the presence of hepatic encephalopathy.

In the control group, the NCE was  $7.89 \pm 0.81$  ng / ml, while in patients with chronic viral hepatitis C it was  $12.97 \pm 0.85$  ng / ml, which is almost 65.3%. Relatively ( $p \leq 0.05$ ) increased NCE content in more than 83% of patients was recorded in patients with liver encephalopathy, which may indicate a brain neuronal damage in patients with viral glandular encephalopathy.

**Conclusions:** The establishment of a change in the metabolism of phosphotriose in blood cells suggests the predominant use of phosphotriose and neuron-specific enolase for energy metabolism and ATP production, that is, it is possible to assume a possible imbalance between the energy and plastic potentials in blood cells of patients with chronic viral hepatitis C, especially in erythrocytes.

### Referenses

1. Sanyal A.J., Mullen K.D., Bass N.M. The treatment of hepatic encephalopathy in the cirrhotic patient. // *Gastroenterol Hepatol.* – 2010. – T. – 6. – P. (4 Suppl 8):1–12.
2. Bismuth M., Funakoshi N., Cadranet J.F. Hepatic encephalopathy: From pathophysiology to therapeutic management. // *Eur J Gastroenterol Hepatol.* - 2011. – T.23. – P. 8–22.

3. Butterworth R.F. Editorial: Rifaximin and minimal hepatic encephalopathy. // *Am J Gastroenterol.* – 2011. – T.106. – P: 317–328.
4. Seyan A.S., Hughes R.D., Shawcross D.L. Changing face of hepatic encephalopathy: Role of inflammation and oxidative stress. // *World J Gastroenterol.* – 2016. – T.16. – P.3347–3357.
5. McPhail M.J. Pathogenesis and diagnosis of hepatic encephalopathy. / McPhail M.J., Bajaj J.S., Thomas H.C., Taylor-Robinson S.D. // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2017. – T.4. – P. 365–378.
6. Bakurova O. M., Borzenko B. G., Mironova K. O. Porushennya obminu klitin krovi pri razi shlunka // *Perspektivi medizini ta biologii.* — 2011. — T. 3, № 1. — S.45–46.
7. Bakurova O. M., Popovich O. Yu., Mironova K. O. i dr. Zmini aktivnosti adenozeinaminazi pri pidvischenomu onkoriziku ta karzinomach riznoi lokalizazii // *Naukoviy visnik Uzhgorodskogo universitetu, seriya «Medizina».* — Vypusk 3 (42). — 2011. — S. 19–23.
8. Borzenko B.G., Zhebelenko Ya.G., Zuykov S.O. i dr. Osobnosti sistemy antiradikal'noy zaschity i uglevodnyy obmen eritrocytov u bol'nykh yazvennoy boleznyu // *Zagal'na patologiya ta patologichna fiziologiya.* — 2010. — T.5, № 3. —S.186 — 189.
9. Korzhov V.I., Zhadan V.N., Korzhov M.V. Rol' sistemy glutationa v prozesach detoksikazii i antioksidantnoy zaschity // *Zhurn. AMNU.* — 2007. — T.13, № 1. — S. 3 — 19.

10. Lishnevskaya V.Yu., Duzhak G.V. Eritrozity pri starenii // Materiali IV nazional'nogo kongresu gerontologiv i geriatriv Ukraini , 11-13 zhovtnya 2005 r., m. Kiiv. – Problemy stareniya i dolgoletiya. — 2005. — T.14 (prilozhenie). — S. 157 — 158.
11. Strashok L.A. Oksidativnyy stress i gormonal'nyy status u podrostkov s duodenal'noy yazvoy // Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurn. — 2008. — №1. — S. 88 91.
12. Nilsson E. Incidence, clinical presentation and mortality of liver cirrhosis in Southern Sweden: a 10-year population-based study. / Nilsson E., Anderson H., Sargenti K., Lindgren S., Prytz H. // Alimentary pharmacology & therapeutics. - 2016. – T. 43(12). – P. 1330–1339.
13. Vandenbulcke H. Alcohol intake increases the risk of HCC in hepatitis C virus-related compensated cirrhosis: A prospective study. / Vandenbulcke H., Moreno C., Colle I., Knebel J.F., Francque S., Serste T., et al. // Journal of hepatology. - 2016. – T. 51(6). – P.1972–1978.
14. Jepsen P., Vilstrup H., Andersen P.K. The clinical course of cirrhosis: The importance of multistate models and competing risks analysis. // Hepatology. - 2015. – T. 62(1). – P. 292–302. doi: 10.1002/hep.27598.
15. Kuk D., Varadhan R. Model selection in competing risks regression. // Statistics in medicine. - 2013. – T. 32(18). – P. 3077–3088. doi: 10.1002/sim.5762.
16. Féray C. Is HCV infection a neurologic disorder? // Gastroenterology. – 2012. – T.142. – P. 428–431.
17. Monaco S. HCV-related nervous system disorders. / Monaco S., Ferrari S., Gajofatto A., Zanusso G., Mariotto S. // Clin Dev Immunol. – 2012. – T. 2012:23. - P. 6148 - 6153.

*Матеріал надійшов до редакції 05.12.2017 р.*

© Герасименко Н.Д., Расин М.С.

УДК:616.1-005.6-085:615:616.12-084-06:616.12-008.46

## АНТИТРОМБОТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ПРОФИЛАКТИКЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ (СМЕРТЬ, ОСТРЫЙ ИНФАРКТ МИОКАРДА, ИНСУЛЬТ) У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ\*

Герасименко Н.Д., Расин М.С.

ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

*У статті висвітлено особливості антитромботичної терапії в профілактиці серцево-судинних подій (смерть, гострий інфаркт міокарда, інсульт) у хворих на хронічну серцеву недостатність. Показано, які антикоагулянти або антиромбоцитарні препарати мають переваги з урахуванням особливостей функціонування органів і систем у осіб з серцевою недостатністю. Антиромботична терапія показана всім хворим з фібриляцією передсердь і серцевою недостатністю. Доцільність антикоагулянтної або антиромботичної терапії не була доведена у пацієнтів з синусовим ритмом, ризик кровотеч перевищує антиромботичний ефект у пацієнтів даної групи. Результати контрольованих досліджень рекомендують антикоагулянтну терапію пацієнтам із серцевою недостатністю, які знаходяться в групі високого ризику, зокрема, при фібриляції передсердь, з раніше перенесеними тромбоемболічними епізодами, значним зниженням фракції викиду лівого шлуночка, при внутрішньосерцевих тромбозах і у хворих з аневризмою. Також немає доказів, що дозволяють призначати антиромботичну терапію для зниження ризику інсульту і тромбоемболій у пацієнтів з серцевою недостатністю і синусовим ритмом. У виборі антиромботичної терапії слід орієнтуватися на індекси CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc і HAS-BLAD.*

**Ключові слова:** антиромботична терапія, профілактика судинних подій, хронічна серцева недостатність

### Введение

Хроническая сердечная недостаточность (СН) - одна из главных клинических проблем современной медицины, поражает 1-2% взрослой популяции и 6-10% лиц старше 65 лет [13]. В Украине распространенность СН среди взрослого населения составляет 1,7% [1]. СН ответственна за 5% всех госпитализаций, включая гериатрические. Смертность среди госпитализированных больных СН составляет 4% в месяц, 18% за 6 месяцев, 30% в год и 40% в течение 3х лет.

Можно предположить, исходя из мировых статистических данных, что в Украине должно быть приблизительно 480-560 тысяч больных с СН [2].

После фибрилляции предсердий (ФП, мерцательной аритмии (МА)), которая ответственна за 15% инсультов, СН является следующей наиболее частой причиной (9%) всех инсультов.

Кардиоэмболические инсульты, инфаркты миокарда (ИМ), внезапная смерть и венозный тромбоемболизм, занимают до 30% в структуре фатальных и не фатальных осложнений у больных СН и обуславливают высокую смертность и госпитализацию [21]. Антиромботическая терапия (АТТ) в этом плане весьма перспективна [10].

Особое значение имеет АТТ при ФП, которая является наиболее частой аритмией и встречается с частотой 1%-2% в общей популяции: 0,5% у лиц в 40-50 лет и 5%-15% у людей старше 80 лет [7]. Инсульт является наиболее частым осложнением МА. Во Фремингемском исследовании риск инсульта при МА был в 5 раз выше, чем у лиц с синусовым ритмом и возрастал до 1,5% в 50-59 лет и до 23,5% в 80-89 лет. 70-80% лиц с МА имеют показания к лечению ораль-

ными антикоагулянтами (ОАК), 20-30% из них страдают ИБС. У пациентов с ФП варфарин и антиромбоцитарные средства снижают риск инсульта, примерно, на 65% и 20%, соответственно.

Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что 29% пациентов с СН не получают АТТ, 31% получают только малозэффективную АТТ и 39% получают варфарин, из которых только 10% поддерживают МНО в терапевтическом интервале [8].

Переоценка риска кровотечений является барьером для назначения терапевтами АТТ. Риск кровотечений увеличивается с возрастом, но протективный эффект АТТ превышает его во всех возрастных группах [20].

В последние годы появилось много новых антиромботических препаратов, которые успешно прошли рандомизированные клинические исследования (КИ) и показали высокую эффективность и достаточную безопасность. Эти препараты, а также тактика применения АТТ претерпели серьезные изменения, отраженные в новых рекомендациях Европейской и Американской ассоциаций кардиологов и кардиохирургов [3, 6, 11], которые еще недостаточно знакомы широкому кругу терапевтов Украины. Однако еще недостаточно данных касательно ДАТТ у лиц с СН [19].

### Точки приложения и классификация антиромбоцитарных препаратов.

Антиромбоцитарные средства включают:

- ингибиторы циклооксигеназы 1, в первую очередь, аспирин (ацетилсалициловую кислоту (АСК)) и другие нестероидные противовоспалительные средства, что предотвращает образование ТксА2 и индуцируемую им агрегацию ТЦ;

\* Цитування при атестації кадрів: Герасименко Н.Д., Расин М.С. Антиромботическая терапия в профилактике сердечно-сосудистых событий (смерть, острый инфаркт миокарда, инсульт) у больных хронической сердечной недостаточностью // Проблемы екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 23–28.

- блокаторы рецепторов ТЦ P2Y<sub>12</sub>: тиклопидин, клопидогрель, прасугрель, кангрелор; тикагрелор;
- ингибиторы активации гликопротеиновых рецепторов ТЦ IIb/IIIa: абциксимаб, эптифибатиди тирофибан и ворапаксар, ингибирующий активирующий протеазы рецептор -1.

Антикоагулянтные стратегии включают:

- варфарин и другие производные кумарина, которые действуют путем блокады синтеза витамина К в печени.
- непрямые ингибиторы тромбина: гепарин, его низкомолекулярные фрагменты, требующие кофактора - антитромбина III;
- прямые ингибиторы тромбина: гирудин, бивалирудин и дабигатран,
- ингибиторы Ха фактора аписобан, эдоксабан, ривароксабан;

Дабигатран (ДБГ), аписобан, эдоксабан и ривароксабан (РРБ) относятся к «новым антикоагулянтам» (НОАК), часто рассматриваемых в метаанализах вместе.

**Антитромботическая терапия (АТТ).** Несмотря на частую назначаемость больным СН, АСК не эффективно предупреждает тромбообразование при СН.

В КИ WASH показано, что в дозе 300 мг АСК не снижала смертность больных с СН по сравнению с плацебо, увеличивая частоту кровотечений с 5% до 13%. В КИ V-HeFT I и V-HeFT II АСК не снижала частоту тромбоэмболических событий (ТЭС) у больных с СН. Напротив, в ретроспективном КИ SAVE наблюдался значительный эффект АСК в предупреждении ТЭС – снижение на 56%, а в КИ SOLVD на 23% у мужчин и на 53% у женщин, а также снижение внезапной смерти на 24%. АСК может способствовать развитию декомпенсации СН. Об этом свидетельствуют КИ, показавшие большую частоту госпитализации больных на терапии аспирином, чем варфарином. Это объясняется тем, что АСК ингибирует синтез сосудорасширяющих простагландинов и увеличивает эндотелинзависимую вазоконстрикцию. Этим объясняется большая смертность больных на комбинированной терапии большими дозами АСК и ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента, зафиксированная в КИ WASH, WATCH, SOLVD и CONSENSUS II.

**Ингибиторы рецепторов тромбоцитов P2Y<sub>12</sub> тиенопиридиновой природы (тиклопидин, клопидогрель, прасугрель, тикагрелол).** Наиболее изученным среди блокаторов рецепторов P2Y<sub>12</sub> является клопидогрель, относящийся к группе тиенопиридинов, метаболиты которого, образуемые в печени при участии цитохрома P450, необратимо блокируют рецепторы P2Y<sub>12</sub>. Тиклопидин и прасугрель – обратимо блокируют P2Y<sub>12</sub>. Они действуют быстрее и более мощно, чем клопидогрель, но вызывают больше кровотечений. Тикагрелор является производным циклопентилтриазолопиримидинов.

**Двойная антитромбоцитарная терапия (ДАТТ).** Показано, что двойная блокада циклооксигеназы-1 с помощью АСК и рецепторов АДФ P2Y<sub>12</sub> клопидогрелем ассоциирована с значительным снижением риска ИМ. В отношении риска инсульта данные менее определенные. В исследовании PLATO были продемонстрированы на фоне терапии АСК преимущества ти-

кагрелола перед клопидогрелем в предупреждении тромбоэмболий и смерти у больных с острым коронарным синдромом (ОКС), однако, за счет увеличения частоты больших кровотечений, особенно при применении больших доз АСК [14].

В исследовании MATCH не было найдено ассоциации ДАТТ со снижением риска инсульта, но был увеличен риск опасных для жизни кровотечений. В исследованиях ESPRIT (АСК + дипиридамол) и PRoFESS было найдено 20% снижение общей смертности от всех сердечно-сосудистых событий.

Пациенты с ОКС и требующие стентирования, нуждаются в ДАТТ АСК и антагонистом P2Y<sub>12</sub> рецепторов ТЦ к АДФ [19].

Метаанализ доступных исследований показал, что терапия АСК снижала на 1,5% сосудистые события и на 20% количество инсультов и коронарных событий при незначимом статистически увеличении геморрагических инсультов. Более мощные ингибиторы P2Y<sub>12</sub>, прасугрель и тикагрелор приводят к 20% снижению риска ОКС, но остается нерешенной проблемой существенное увеличение кровотечений по сравнению с клопидогрелем. Данные в отношении влияния прасугреля и тикагрелора при СН отсутствуют.

В популяциях высокого риска (сахарный диабет, старческий возраст, почечная недостаточность, перенесенный ранее ИМ, инсульт и тромбоз стента) количество ишемических осложнений остается очень высоким. Эти же группы характеризуются высоким риском кровотечений. Эти данные свидетельствуют, что ишемические осложнения опосредованы не только ТЦ и ДАТТ не блокирует эти пути. Для лечения таких больных применяется антикоагулянтная терапия.

**Антагонисты рецепторов гликопротеида IIb/IIIa (абциксимаб, тирофибан, эптифибатид).** Гликопротеид IIb/IIIa – белок, появляющийся в мембране ТЦ при их активации, служит рецептором коллагена и фактора фон Виллебранда. Он обеспечивает адгезию и агрегацию. Блокада гликопротеида IIb/IIIa препятствует адгезии и агрегации ТЦ механизмом, отличающимся от действия АСК и тиенопиридинов. В настоящее время в клинической практике применяются три препарата: абциксимаб, тирофибан, эптифибатид.

Все три препарата обладают мощным антиагрегантным действием и применяются только парентерально, в основном, при ИМ, ОКС и коронарной ангиопластике в сочетании с гепарином и АСК.

**Антикоагулянтные препараты. Нефракционированный гепарин.** Гепарин активен против факторов внутреннего и общего механизмов свертывания (в частности, IXa, Ха и тромбина), является активатором антитромбина III, ускоряет взаимодействие антитромбина III с тромбином более чем в 1000 раз. Антитромбин III быстро (T<sub>1/2</sub> < 0,1 с) ингибирует факторы IXa, Ха и тромбин при концентрации гепарина в плазме 0,1 — 10 Ед/мл. При этом удлиняются активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ) и тромбиновое время (время свертывания плазмы при добавлении тромбина. Фактор Ха на поверхности ТЦ и тромбин, связанный с фибрином, не ингибируются гепарином и антитромбином III.

Гепарин начинает действовать быстро, что позволяет использовать его при венозных тромбозах и ТЭЛА. Длительность лечения обычно составляет 4—5



сут. Сразу назначают и непрямые антикоагулянты внутрь, которые к моменту отмены гепарина реализуют полноценный эффект. При тромбозах и эмболиях, рецидивирующих на фоне обычного лечения прямыми антикоагулянтами (например, при синдроме Труссо), проводят длительную гепаринотерапию. Гепарин применяют также: при нестабильной стенокардии и ИМ; при баллонной коронарной ангиопластике и установке стента; при операциях, требующих искусственного кровообращения; у некоторых больных с ДВС-синдромом.

**Низкомолекулярные гепарины (НМГ):** эноксапарин, далтепарин, ардепарин, надропарин, ревипарин, тинзапарин. НМГ вводят подкожно 1—2 раза в сутки, они почти не влияют на показатели свертываемости крови и лабораторный контроль обычно не нужен. Показанием к применению НМГ стала профилактика венозных тромбозов и ТЭЛА. Была показана их эффективность при венозных тромбозах, ТЭЛА и нестабильной стенокардии. Лечение НМГ реже осложняется гепариновой тромбоцитопенией, остеопорозом и кровоточивостью.

**Гирудин и бивалирудин.** Полипептид гирудин содержится в слюне пиявок (*Hirudo medicinalis*) и понижает свертывание крови посредством блокады активного центра тромбина. Действие не зависит от антитромбина III, и поэтому препарат может применяться у больных с его дефицитом. Лепирудин и дезирудин — аналоги гирудина, произведенные методами генной инженерии.

**Бивалирудин (БВР).** БВР — мощный, специфический, обратимый, прямой ингибитор тромбина, синтетическое производное гирудина, ингибирует свободный и связанный с фибрином тромбин и индуцируемую тромбином активацию, и агрегацию ТЦ. В отличие от гепарина БВР не требует кофактора — антитромбина, не вызывает синдрома «тромботическая тромбоцитопения» и не активирует ТЦ, что делает его идеальной альтернативой гепарину. В КИ продемонстрированы позитивные результаты применения БВР при стабильной и нестабильной стенокардии, ИМ с подъемом и без подъема сегмента ST. БВР имеет меньше побочных эффектов по сравнению с гепарином. В метаанализе КИ БВР, включающих 14258 пациентов с ОКС на ДАТТ БВР, по сравнению с гепарином и ингибитором гликопротеина IIb/IIIa, в регистре PREMIER (Prospective Registry Evaluating Outcomes After Myocardial Infarctions: Events and Recovery) продемонстрировал более низкий риск смерти у пациентов со снижением функции левого желудочка <35%, отмечено снижение госпитальной смертности на 37% у пациентов с СН.

**Производные кумарина (варфарин, фенпрокоуман, айценокуман и другие антагонисты витамина К).** Антикоагулянты непрямого действия блокируют в печени синтез витамин К-зависимых факторам свертывания крови (II, V, VII, IX и X). В отличие от антикоагулянтов прямого действия, их эффект развивается медленно. В метаанализе проведенных КИ терапия варфарином на 64% снижала риск инсульта и на 26% общую смертность по сравнению с плацебо.

У пациентов с СН и ФП варфарин в дозе, обеспечивающий МНО на уровне 2,0-3,0, снижал риск инсульта на 65% [5]. ДАТТ не может конкурировать с

варфарином в этом плане. КИ ACTIVE-W, включавшее пациентов с ФП и  $\geq 1$  фактора риска инсульта, было преждевременно остановлено в связи с явным преимуществом терапии варфарином перед комбинацией АСК и клопидогреля без увеличения риска кровотечений [12].

В метаанализе 6 КИ терапии варфарином, проведенных с 2002 по 2012 годы, было установлено, что риск инсульта выше у пациентов женского пола пожилого и старческого возраста, которые ранее не принимали варфарин, с уже перенесенным инсультом или транзиторными ишемическими атаками, почечной недостаточностью, предшествующим приемом АСК, но даже в группе самого высокого риска (перенесенный ранее инсульт) годичный риск повторного инсульта был относительно низким (2,5% в год), что подтверждает роль ОАК (варфарина) как основного средства предупреждения кардиоэмболических осложнений у больных с ФП.

Однако прием варфарина имеет много ограничений: кровотечения, необходимость мониторинга МНО и дозы варфарина, взаимодействие с другими лекарствами, метаболизируемыми цитохромом P450, и зависимость от генетического полиморфизма CYP2C9 и VKORC148,49, диетические взаимодействия. Из этого следует, что только половина пациентов, нуждающихся в варфаринотерапии, получают его. ДАТТ АСК и клопидогрелем показана пациентам с ФП, которые не могут использовать варфарин.

**Новые оральные антикоагулянты (НОАК).** НОАК созданы для преодоления недостатков терапии варфарином. Прямые ингибиторы тромбина (гатраны), в частности, дабигатран, соединяются с тромбином и блокируют превращение фибриногена в фибрин и активацию V, VII, IX факторов и ТЦ.

НОАК, которые селективно блокируют тромбин (ДБГ) или фактор Ха (РРБ или аписабан) имеют ряд выгодных характеристик: хорошую переносимость, быстрое начало действия, минимальное взаимодействие с пищей и медикаментами, отсутствие необходимости мониторинга и титрования дозы, доказанную эффективность и низкую опасность кровотечений.

В метаанализе контролируемых КИ НОАК снижали смертность на 11% и 12%, системный эмболизм на 18% и 23%, интрацеребральные гемorragии на 21% и 54%. Годичный абсолютный риск смертности 2,4% и 2,8% для НОАК и 3,1% и 3,5% для варфарина.

Четыре новых КИ (РРБ, аписабана и эдоксабана) не включали пациентов, принимающих клопидогрель. Сочетание ДБГ с АСК и ДАТТ (АСК и клопидогрель) мало влияло на эффективность ДБГ, тогда как большие дозы ДБГ превосходили, а малые — не уступали варфарину в эффективности без увеличения риска кровотечений. Эти данные подтверждают сведения о том, что АТТ с НОАК не способствует большей эффективности, но повышают риск кровотечений. У пациентов с высоким риском кровотечений не следует применять АТТ в сочетании с НОАК. Применение аписабана в дозе 5 мг 2 раза в день, в КИ ARISTOTLE, проведенном у 18201 пациента с МА и  $\geq 1$  фактора риска инсульта, показало через 1,8 лет преимущество перед варфарином в снижении конечных точек, ишемии, кровотечений и смертности от всех

причин. Прием АСК не влиял на эффект апиксобана, хотя относительный риск инсульта снижался с 42% до 16% без увеличения кровотечений. Применение апиксобана в виде монотерапии, либо в сочетании с АСК было безопаснее варфарина.

**Прямые антагонисты тромбина (гатраны). Дабигатран (ДБГ)** – прямой ингибитор тромбина для пероральной терапии является альтернативой варфарину, так как имеет сходные показатели эффективности, но не требует мониторинга МНО. В США апробированный и разрешенный к применению его антидот – идаруцизумаб. В исследовании RE-LY ДБГ показал более высокую эффективность по сравнению с варфарином в предупреждении инсульта и системных эмболов и равный уровень риска больших кровотечений, не влияя на течение СН.

**Блокаторы Ха фактора (апиксобан, РРБ, эдоксабан).** Наиболее изучены ингибиторы Ха фактора апиксобан и РРБ. Созданы и находятся на разных стадиях клинического применения другие ингибиторы Ха фактора: эдоксабан, отамиксобан, дарексобан, бетриксабан и ТАК-442. Среди НОАК, ДБГ и апиксобан более эффективно предотвращает инсульты, чем варфарин, у пациентов с клапанной патологией. Дополнительным достоинством НОАК является отсутствие влияния пищи, других медикаментов и необходимости контролировать уровень коагуляции лабораторными исследованиями.

АПБ рекомендован Национальным Институтом Здоровья США для предотвращения инсультов и системных эмболов у людей с клапанной ФП и хотя бы одним из факторов риска (перенесенный инсульт, транзиторная ишемическая атака, возраст 75 лет и старше, сахарный диабет и СН).

В исследовании ARISTOTLE АПБ лучше предупреждал развитие инсульта и системные эмболии у пациентов с ФП. При его приеме наблюдалось меньшее число больших кровотечений с меньшей смертностью, чем при приеме варфарина. В этом исследовании одна треть пациентов страдала СН или снижением фракции выброса левого желудочка. В исследовании APPRAISE-2 5 мг АПБ 2 раза в день, в дополнение к стандартной АТТ, не наблюдалось снижения ишемических эпизодов, но существенно повышался риск больших кровотечений у пациентов с ОКС и двумя дополнительными факторами риска повторного инсульта. Исследование было досрочно прекращено в связи с большим количеством кровотечений. В этом исследовании 28% пациентов страдали СН. Смертность в группе больных с СН, принимавших АПБ снижалась на 23% по сравнению с плацебо - 76%.

В исследовании ROCKET AF, в котором 60% пациентов имели СН, РРБ не был лучше варфарина в предупреждении инсультов, системных эмболов и в частоте кровотечений. Отмечалось меньшее количество внутримозговых и фатальных кровотечений.

В исследовании ATLAS ACS-TIMI 51 10% пациентов имели СН и в этой подгруппе было меньше осложнений, чем в группе плацебо.

Метаанализ 11 КИ эффективности и безопасности прямых антикоагулянтов (ДБГ, апиксобана, эдоксабана и РРБ) в предупреждении инсультов и венозного тромбоемболизма по сравнению с варфарином у лиц старше 75 лет, страдающих ФП, показал, что они

имеют, по крайней мере, одинаковую с варфарином эффективность, но различную степень безопасности. ДБГ в дозе 150 мг вызывал статистически незначимое увеличение желудочно-кишечных кровотечений, но значительно снижал число геморрагических инсультов. Апиксобан и эдоксабан снижали риск больших кровотечений, а РРБ не отличался по безопасности от варфарина [18].

Опубликованы данные исследования 44563 пациентов с ФП, которое показало отсутствие превосходства НОАК в снижении частоты инсультов и системных эмболов по сравнению с варфарином среди 21095 больных СН, но наличие такого превосходства у больных без СН [17].

В другом метаанализе «Direct oral anticoagulants for stroke prevention in patients with atrial fibrillation: meta-analysis by geographic region with a focus on european patients» [9], включавшем данные о 72963 больных также не обнаружено преимуществ НОАК, по сравнению с варфарином, в эффективности, но показано некоторое уменьшение тенденции к кровотечениям.

**Методика применения АТТ при СН. Показания к применению АТТ у больных с СН:**

- Фибрилляция предсердий (ФП)
- Тяжелая СН
- Тромбы левого желудочка после перенесенного ИМ
- Аневризма левого желудочка
- Острый коронарный синдром
- Перенесенные ранее тромбоземболические эпизоды

**Оценка риска АТТ и опасности кровотечений. Шкалы риска CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc и HAS-BLED.** Ежегодно от 2,3% до 6,8% пациентов, получающих антикоагулянты, испытывают кровотечения. Интенсивность антикоагулянтной терапии, в частности, комбинированная АТТ и антикоагулянтная терапия, артериальная гипертензия, предшествующая церебральная ишемия, пожилой возраст являются факторами, предрасполагающими к кровотечениям. Эти данные служат для профилактики кровотечений.

При выборе терапии следует оценить риск ишемических событий и кровотечений. Для оценки возможных ишемических событий Европейский консенсус рекомендует CHADS<sub>2</sub> индекс (cardiac failure, hypertension, age, diabetes mellitus, stroke [doubled]) score). При его величине более 2 необходимы оральные антикоагулянты. При индексе от 0 до 1 преимущество за назначением двойной АТТ.

Новая схема CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc (табл. 1) учитывает больше факторов риска и лучше учитывает риск инсульта в популяции [4]. По этой схеме оральные антикоагулянты назначаются при CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc ≥2. При CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc – 1 назначается АСК, а при CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc – 0 антикоагулянты не назначаются вовсе.

HAS-BLED шкала включает в себя оценку риска кровотечений [16], (табл. 1).

При числе факторов риска ≥3, что свидетельствует о высоком риске кровотечений, следует особо тщательно взвешивать соотношение польза/вред при назначении АТТ. Этот индекс хорошо прогнозирует вероятность кровотечений у пациентов на тройной терапии.

Вероятность инсульта (CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc)<sup>14</sup> и риск кровотечений (HAS-BLED)<sup>15</sup> у пациентов с МА и СН

CHA <sub>2</sub> DS <sub>2</sub> -VASc	Баллы	HAS-BLED	Баллы
Сердечная недостаточность	1	Гипертония (систолическое артериальное давление >160 мм рт ст)	1
Гипертония	1	Нарушение функций печени или почек (1 балл каждое)	1-2
Возраст ≥75	2	Инсульт	1
Диабет	1	Предрасположение/предшествующие кровотечения	1
Инсульт/ТИА/ТЭ	2	Лабильное МНО (при терапии варфарином)	1
Болезни сосудов (перенесенный ИМ, инсульт, болезни периферических сосудов или бляшки в артериях)	1	Пожилые люди (например, возраст >65 лет)	1
Возраст 65 - 74 лет	1	Алкоголизм или наркомания (1 балл каждое)	1-2
Женский пол	1		
Максимальный балл	9	Максимальный балл	9

CHADS<sub>2</sub> и HAS-BLED шкалы риска могут быть полезны для индивидуализации и выбора АТТ у больных СН и ФП [15].

#### Основные принципы АТТ у больных с СН и ФП, основанные на доказательной медицине

1) Тройная терапия не должна применяться у пациентов с низким риском инсульта CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc, равном 0 или 1.

2) Терапия варфарином превосходит по эффективности ДАТТ, несмотря на больший риск кровотечений, но важно согласие пациента на соблюдение правил применения варфарина. Пациенты, менее 65% времени находящиеся в оптимальной зоне МНО, не имеют преимуществ по отношению к получающим ДАТТ.

**АТТ у больных СН с синусовым ритмом.** Выполнено большое количество рандомизированных КИ АТТ и АКТ у больных с синусовым ритмом. Установлено, что варфарин больше снижает количество инсультов, чем АСК, но при этом повышает количество геморрагий. Авторы метаанализов сделали вывод о целесообразности применения АСК у пациентов с высоким риском кровотечений и варфарина с большим числом факторов риска инсультов. Применение АТТ для профилактики инсультов у пациентов с неишемической этиологией требует дальнейших исследований.

**Заключение.** СН у больных с ФП повышает риск тромбоэмболий, что менее очевидно у больных с СН и синусовым ритмом. АТТ показана всем больным с ФП и СН. В выборе АТТ следует ориентироваться на принципы, описанные выше, и индексы CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc и HAS-BLED. Лечение больных с СН АТТ связано с наличием у них атеросклеротического поражения сосудов. АТТ эффективна при многих формах болезни сердца, включая пациентов с СН и ФП, но целесообразность антикоагулянтной или АТТ не была доказана у пациентов с синусовым ритмом, хотя показано, что СН сопровождается активацией ТЦ и гиперкоагуляцией и есть доказательства, что терапия варфарином снижает частоту инсультов у пациентов с СН. Риск кровотечений превышает антитромботический эффект у пациентов с синусовым ритмом. Результаты контролируемых исследований не позволяют рекомендовать антикоагулянтную терапию всем пациентам с СН, но рекомендуют ее лицам в группе высокого риска, в частности, при ФП, с ранее перенесенными тромбоэмболическими эпизодами, значительным снижением фракции выброса левого желудочка, при внутрисердечных тромбозах и аневризмой.

Также нет доказательств, позволяющих назначать АТТ для снижения риска инсульта и тромбоэмболий у пациентов с синусовым ритмом. Более того АСК ассоциирована с более частой госпитализацией больных с СН. Имеются слабые доказательства снижения смертности при применении варфарина по сравнению с АСК.

#### Литература

1. Горбась І.М., Воронков Л.Г. Епідеміологічні аспекти хронічної серцевої недостатності у дорослого населення України // Український кардіологічний журнал. – 2008. – № 4. – С. 8–12.
2. Передерий В.Г., Безюк Н.Н. Сердечная недостаточность: как улучшить качество лечения? // Здоровья України. – 2015. – № 74. – URL: <http://health-ua.com/article/19069-serdechnaya-nedostatochnost-kak-uluchshit-kachestvo-lecheniya>
3. Рекомендации ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности 2016 / Европейское Общество Кардиологов (ESC) // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 1 (141). – С. 7–81.
4. Barnes G.D., Gu X., Haymart B., Kline-Rogers E., Almany S., Kozlowski J., et al. The predictive ability of the CHADS<sub>2</sub> and CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc scores for bleeding risk in atrial fibrillation: the MAQI (2) experience // Thromb Res. – 2014. – Vol. 134. – P. 294–299.
5. Cleland J.G., Findlay I., Jafri S., et al. The Warfarin/Aspirin Study in Heart failure (WASH): a randomized trial comparing antithrombotic strategies for patients with heart failure // Am. Heart J. – 2004. – Vol. 148 (1). – P. 157–164.
6. Costa F., van Klaveren D., James S., Heg D., Raber L., Feres F., et al. Derivation and validation of the predicting bleeding complications in patients undergoing stent implantation and subsequent dual antiplatelet therapy (PRECISE-DAPT) score: a pooled analysis of individual-patient datasets from clinical trials // Lancet. – 2017. – Vol. 389. – P. 1025–1034.
7. Furberg C.D., Psaty B.M., Manolio T.A., Gardin J.M., Smith V.E., Rautaharju P.M. Prevalence of atrial fibrillation in elderly subjects (the Cardiovascular Health Study) // Am. J. Cardiol. – 1994. – Vol. 74 (3). – P. 236–241.
8. Gladstone D.J., Bui E., Fang J., Laupacis A., Lindsay M.P., Tu J.V. et al. Potentially preventable strokes in high-risk patients with atrial fibrillation who are not adequately anticoagulated // Stroke. – 2009. – Vol. 40. – P. 235–240.
9. Gómez-Outes A.A., Terleira-Fernández A.I., Calvo-Rojas G., Suárez-Gea M.L., Vargas-Castrillón E. Direct oral anticoagulants for stroke prevention in patients with atrial fibrillation: meta-analysis by geographic region with a focus on European patients // Br J Clin Pharmacol. – 2016. – Vol. 82, Is. 3. – P. 633–644.
10. Gurbel P.A., Tantry U.S. Antiplatelet and Anticoagulant Agents in Heart Failure Current Status and Future Perspectives // JCHF. – 2014. – 2 (1). – С. 1–14.

11. Halvorsen S., Storey R.F., Rocca B., Sibbing D., Ten Berg J., Grove E.L., et al. European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis. Management of anti-thrombotic therapy after bleeding in patients with coronary artery disease and/or atrial fibrillation: expert consensus paper of the European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis. – *Eur Heart J.* – 2017. – Vol. 38 (19). – P. 1455–1462.
12. Hansen M.L., Sorensen R., Clausen M.T., Fog-Petersen M.L., Raunso J., Gadsboll N., et al. Risk of bleeding with single, dual, or triple therapy with warfarin, aspirin, and clopidogrel in patients with atrial fibrillation // *Arch Intern Med.* – 2010. – Vol. 170. – P. 1433–1441.
13. Ho K.K., Pinsky J.L., Kannel W.B., Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study // *J Am Coll Cardiol.* – 1993. – Vol. 22. – P. 6A-13A.
14. James S.K., Roe M.T., Cannon C.P., Cornel J.H., Horrow J., Husted S., et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes intended for non-invasive management: substudy from prospective randomised Platelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial. – *BMJ.* – 2011. – Vol. 342. – P. d3527.
15. Lane D.A., Lip G.Y.H. Use of the CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc and HAS-BLED Scores to Aid Decision Making for Thromboprophylaxis in Nonvalvular Atrial Fibrillation // *Circulation.* – 2012. – Vol. 126. – P. 860–865.
16. Roldan V., Marin F., Manzano-Fernandez S., Gallego P., Vilchez J.A., Valdes M., et al. The HAS-BLED score has better prediction accuracy for major bleeding than CHADS2 or CHA2DS2-VASc scores in anticoagulated patients with atrial fibrillation // *J Am Coll Cardiol.* – 2013. – Vol. 62. – P. 2199–2204.
17. Savarese G., Giugliano R.P., Rosano G.M., McMurray J., Magnani G., Filippatos G., et al. Efficacy and Safety of Novel Oral Anticoagulants in Patients With Atrial Fibrillation and Heart Failure: A Meta-Analysis // *JACC Heart Fail.* – 2016. – Vol. 4 (11). – P. 870–880.
18. Sharma M., Cornelius V.R., Patel J.P., Davies J.G., Molokhia M. Efficacy and Harms of Direct Oral Anticoagulants in the Elderly for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation and Secondary Prevention of Venous Thromboembolism: Systematic Review and Meta-Analysis // *Circulation.* – 2015. – Vol. 132 (3). – P. 194–204.
19. Valgimigli M., Bueno H., Byrne R.A., Collet J.-P., Costa F., Jeppsson A. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The Task Force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) // *European Heart Journal.* – 2018. – Vol. 39, Iss. 3. – P. 213–260.
20. Van Walraven C., Hart R.G., Connolly S., Austin P.C., Mant J., Hobbs F.D., et al. Effect of age on stroke prevention therapy in patients with atrial fibrillation: the Atrial Fibrillation Investigators // *Stroke.* – 2009. – Vol. 40. – P. 1410–1416.
21. Zannad F., Stough W.G., Regnault V., Gheorghiadu M., Deliargyris E., Gibson C.M. et al. Is thrombosis a contributor to heart failure pathophysiology? Possible mechanisms, therapeutic opportunities, and clinical investigation challenges // *Int J Cardiol.* – 2013. – Vol. 67. – P. 1772–1782.

## ENGLISH VERSION: ANTITHROMBOTIC THERAPY IN PREVENTION OF CARDIOVASCULAR EVENTS (DEATH, ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION, STROKE) IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE\*

N.D. Gerasimenko, M.S. Rasin

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

*Chronic heart failure is one of the main clinical challenges of modern medicine. The present paper discusses the features of antithrombotic therapy in prevention of cardiovascular events (death, acute myocardial infarction, stroke) in patients with chronic heart failure. It has been specified, which anticoagulants or antiplatelet agents have advantages taking into account the features of the functioning of organs and systems in patients with heart failure. Antithrombotic therapy is indicated for all patients with atrial fibrillation and heart failure. The feasibility of anticoagulant or antithrombotic therapy has not been proven in patients with sinus rhythm, since the risk of bleeding exceeds the antithrombotic effect in patients of this group. The results of controlled trials recommend anticoagulant therapy for patients with heart failure who are at high risk, particularly in atrial fibrillation, with previous thromboembolic episodes, a significant reduction in the left ventricular ejection fraction, intracardiac thrombosis and in patients with aneurysm. There is also no evidence to prescribe antithrombotic therapy for reducing the risk of stroke and thromboembolism in patients with heart failure and sinus rhythm. The choice of antithrombotic therapy should be guided by the CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc and HAS-BLAD indices.*

**Key words:** antithrombotic therapy, prevention of vascular events, chronic heart failure

### Introduction

Chronic heart failure (HF) is one of the main clinical problems of modern medicine, affecting 1-2% of the adult population and 6-10% of people above the age of 65 [13]. In Ukraine, the prevalence of HF among the adult population is 1.7% [1]. HF causes 5% of all hospitalizations, including geriatric ones. Mortality among hospitalized patients with heart failure is 4% per month, 18% per 6 months, 30% per year and 40% per 3 years.

Based on world statistics, it can be assumed that in Ukraine there are approximately 480-560 thousands of patients with HF [2].

After atrial fibrillation (AF), which is responsible for 15% of strokes, HF is the next most common cause (9%) of all strokes.

Cardioembolic strokes, myocardial infarction (MI), sudden death and venous thromboembolism occupy up to 30% in the structure of fatal and nonfatal complications in patients with HF and cause high rates of mortality and hospitalization [21]. In this context, antithrombotic therapy (ATT) is very promising [10].

Of particular importance is ATT in AF, which is the most frequent arrhythmia that occurs at a frequency of 1%-2% in the general population: 0.5% in individuals aged 40-50 years and 5%-15% in people above the age of 80 [7]. Stroke is the most common complication of AF. In the Framingham study, the risk of stroke in AF was by 5 times higher than in individuals with sinus rhythm and increased up to 1.5% at the age of 50-59 years and up to 23.5% at the age 80-89 years. 70-80% of persons with AF have indications for treatment with oral anticoagulants (OAC), 20-30% of them suffer from coronary heart disease. In patients with AF, warfarin and antiplatelet agents reduce the risk of stroke by approximately 65% and 20%, respectively.

Epidemiological studies indicate that 29% of patients with HF do not receive ATT, 31% receive only ineffective ATT and 39% receive warfarin, of which only 10% maintain INR within the therapeutic interval [8].

Reassessing the risk of bleeding is a barrier for prescribing ATT by therapists. The risk of bleeding increases

with age, but the protective effect of ATT exceeds it in all age groups [20].

In recent years, many new antithrombotic drugs have appeared which have successfully undergone randomized clinical trials (CTs) and have shown high efficacy and sufficient safety. These drugs, as well as the tactics of using ATT, have been subject to serious changes, reflected in the new recommendations of the European and American associations of cardiologists and cardiac surgeons [3, 6, 11], which are still not well known to a wide range of Ukrainian therapists. However, there is still insufficient data on DAPT in patients with HF [19].

### Points of application and classification of antiplatelet drugs.

Antiplatelet agents include:

- inhibitors of cyclooxygenase 1, primarily aspirin (acetylsalicylic acid (ASA)) and other non-steroidal anti-inflammatory drugs, which prevents the formation of TxA<sub>2</sub> and induced platelet aggregation;
  - R<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> platelet receptors blockers: ticlopidine, clopidogrel, prasugrel, cangrelor; ticagrelor;
  - inhibitors of the activation of glycoprotein IIb/IIIa platelet receptors: abciximab, eptifibatide, tirofiban and vorapaxar, inhibiting protease-activating receptor-1.
- Anticoagulant strategies include:
- warfarin and other coumarin derivatives that act by blocking the synthesis of vitamin K in the liver.
  - indirect thrombin inhibitors: heparin, its low molecular weight fragments requiring a cofactor – antithrombin III;
  - direct thrombin inhibitors: hirudin, bivalirudin and dabigatran,
  - Xa factor inhibitors: apicosan, edoxaban, rivaroxaban; Dabigatran (DBG), apixaban, edoxaban, and rivaroxaban (RRB) are referred to as “new anticoagulants” (NAC), often considered in meta-analyses together.

**Antithrombotic therapy (ATT).** Despite the frequent prescription to patients with HF, ACC does not effectively prevent thrombosis in HF.

In the WASH clinical trial, it was shown that at a dose of 300 mg, ACC did not reduce the mortality of patients

\* To cite this English version: N.D. Gerasimenko, M.S. Rasin. Antithrombotic therapy in prevention of cardiovascular events // Problemy ekologiji ta medycyny. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 29–33.

with HF as compared with placebo, increasing the incidence of bleeding from 5% to 13%. In the V-HeFT I and V-HeFT II clinical trials, ACC did not reduce the frequency of thromboembolic events (TEE) in patients with HF. In contrast, in the retrospective study CI SAVE, there was a significant effect of ACC in preventing TEE – reduction by 56%, and in the SOLVD clinical trial, by 23% in men and 53% in women, as well as reduction of sudden death by 24%. ACC can contribute to the development of decompensation of heart failure. This is indicated by the clinical trial, which showed a higher incidence of hospitalization of patients treated with aspirin than with warfarin. This is because ACC inhibits the synthesis of vasodilating prostaglandins and increases endothelin-dependent vasoconstriction. This explains the high mortality of patients receiving combined therapy with large doses of ACC and angiotensin-converting enzyme inhibitors, as observed in the WASH, WATCH, SOLVD, and CONSENSUS II clinical trials.

**P2Y<sub>12</sub> platelet receptor inhibitors of thienopyridine nature (ticlopidine, clopidogrel, prasugrel, ticagrelor).** Among P2Y<sub>12</sub> receptor blockers, clopidogrel is the most studied. It is related to thienopyridine group, whose metabolites, formed in the liver involving cytochrome P450, irreversibly block P2Y<sub>12</sub> receptors. Ticlopidine and prasugrel reversibly block P2Y<sub>12</sub>. They act faster and stronger than clopidogrel, but cause more bleeding. Ticagrelor is a derivative of cyclopentyl triazolo-pyrimidines.

**Double antiplatelet therapy (DAPT).** It has been shown that the double blockade of cyclooxygenase-1 with ACC and P2Y<sub>12</sub> ADP receptors with clopidogrel is associated with a significant reduction in the risk of AF. With regard to the risk of stroke, the data is less certain. The PLATO trial demonstrates the advantages of ticagrelor over clopidogrel in preventing thromboembolism and death in patients with acute coronary syndrome (ACS), but at the expense increased frequency of major bleeding, especially with the use of large doses of ACC [14].

The MATCH study found no association of DAPT with a reduced risk of stroke, but there was an increase in the risk of life-threatening hemorrhages. In the ESPRIT and PRoFESS studies (ACC + dipyridamole), a 20% reduction in total mortality from all cardiovascular events was found.

Patients with ACS requiring stenting need DAPT with ACC and antagonists of P2Y<sub>12</sub> TC receptors to ADP [19].

A meta-analysis of available studies showed that ACC therapy reduced the vascular events by 1.5% and the number of strokes and coronary events by 20% with an insignificant statistically increased rate of hemorrhagic stroke. Stronger inhibitors of P2Y<sub>12</sub>, prasugrel and ticagrelor, lead to a 20% reduction in the risk of ACS, but there remains an unresolved problem of a significant increase in bleeding as compared to clopidogrel. Data on the effect of prasugrel and ticagrelor in HF is not available.

In high-risk populations (diabetes mellitus, senile age, renal failure, previous MI, stroke and stent thrombosis), the number of ischemic complications remains very high. The same groups are characterized by a high risk of bleeding. These data indicate that ischemic complications are mediated not only by TC, and DAPT does not block these pathways. Anticoagulant therapy is used for treatment of such patients.

**Antagonists of glycoprotein IIb/IIIa receptors (abciximab, tirofiban, eptifibatide).** Glycoprotein IIb/IIIa is a protein appearing in the membrane of TC when acti-

vated, which serves as a receptor of collagen and von Willebrand factor. It provides adhesion and aggregation. The blockade of IIb/IIIa glycoprotein prevents adhesion and aggregation of TC by a mechanism that is different from that of ACC and thienopyridines. Currently, three medications are used in clinical practice: abciximab, tirofiban, eptifibatid.

All three medications have a strong antiplatelet effect and are applied only parenterally, mainly in MI, ACS and coronary angioplasty in combination with heparin and ACC.

**Anticoagulants. Unfractionated heparin.** Heparin is active against factors of internal and general coagulation mechanisms (in particular, IXa, Xa and thrombin); it is an activator of antithrombin III, accelerating the interaction of antithrombin III with thrombin by more than 1000 times. Antithrombin III rapidly (T<sub>1/2</sub><0.1 s) inhibits IXa, Xa and thrombin factors at the plasma heparin from of 0.1 to 10 U/ml. The activated partial thrombin time (APTT) and thrombin time (plasma clotting time with addition of thrombin) are prolonged. The Xa factor on the TC surface and thrombin, bound to fibrin, are not inhibited by heparin and antithrombin III.

Heparin begins to act quickly, which allows doctors to use it in venous thrombosis and PE. The duration of treatment is usually 4-5 days. Indirect anticoagulants per os are simultaneously prescribed, since they provide a valid effect by the time of heparin withdrawal. In thrombosis and embolism, recurring against the background of conventional treatment with indirect anticoagulants (for example, in Trousseau's syndrome), a prolonged heparin therapy is conducted. Heparin is also used: in unstable angina and MI; in balloon coronary angioplasty and stent placement; in operations requiring artificial circulation; in some patients with DIC syndrome.

**Low molecular weight heparins (LMWH):** enoxaparin, dalteparin, ardeparin, supraparin, reviparin, tinzaparin. LMWH is administered subcutaneously 1-2 times a day, they have almost no effect on blood coagulability and laboratory control is usually not needed. Indication for the use of LMWH is the prevention of venous thrombosis and PE. Their effectiveness in venous thrombosis, PE and unstable angina was demonstrated. Treatment with LMWH is less frequently complicated by heparin thrombocytopenia, osteoporosis and bleeding.

**Hirudin and bivalirudin.** The hirudin polypeptide is found in the saliva of leeches (*Hirudo medicinalis*). It lowers blood clotting by blocking the active center of thrombin. The effect of hirudin does not depend on antithrombin III, and therefore the medication can be used in patients with its deficiency. Lepirudin and desirudin are analogs of hirudin, produced by genetic engineering methods.

**Bivalirudin (BVR).** BVR is a strong, specific, reversible, direct thrombin inhibitor, a synthetic derivative of hirudin, which inhibits free and fibrin bound thrombin, and thrombin-induced activation, and TC aggregation. Unlike heparin, BVR does not require cofactor – antithrombin; it does not cause thrombotic thrombocytopenia syndrome and does not activate TC, which makes it an ideal alternative to heparin. Clinical trial demonstrated positive results of BVR use in stable and unstable angina pectoris, myocardial infarction with and without elevation of the ST segment. BVR has fewer side effects than heparin. The meta-analysis of BVR CT, including 14258 patients with ACS receiving BVR DAPT, in comparison with heparin and glycoprotein IIb/IIIa inhibitor, the PREMIER register (Prospective Registry Evaluating Outcomes After Myo-

cardial Infarctions: Events and Recovery) demonstrated a lower risk of death in patients with decreased left ventricular function <35%, a reduction in hospital mortality by 37% in patients with heart failure.

**Coumarin derivatives (warfarin phenprocoumon, aicenokuman and other vitamin K antagonists).** Anticoagulants of indirect action block the synthesis of vitamin K-dependent factors of blood coagulation (II, V, VII, IX, X) in the liver. Unlike anticoagulants of direct action, their effect develops slowly. In the meta-analysis of CTs, warfarin therapy reduced the risk of stroke by 64% and overall mortality by 26% compared with placebo.

In patients with HF and AF, warfarin in a dose providing INR at 2.0-3.0 reduced the risk of stroke by 65% [5]. DAPT cannot compete with warfarin in this regard. The ACTIVE-W clinical trial, which included patients with AF and ≥1 risk factor for stroke, was withdrawn ahead of schedule due to the obvious advantage of warfarin therapy as compared with combination of ACC and clopidogrel without increasing the risk of bleeding [12].

In the meta-analysis of 6 clinical trials on warfarin therapy, conducted from 2002 to 2012, it was found that the risk of stroke is higher in elderly and senile women who have not previously taken warfarin, with stroke or transient ischemic attacks already present, with renal insufficiency prior to administering ACC, but even in the group at the highest risk (previous stroke), the annual risk of recurrent stroke was relatively low (2.5% per year), which confirms the role of OAC (warfarin) as the main means for preventing cardioembolic complications in patients with atrial fibrillation.

However, taking warfarin has many limitations: bleeding, the need to monitor INR and the dose of warfarin, interaction with other drugs metabolized by cytochrome P450, dependence on genetic polymorphism CYP2C9 and VKORC148,49, dietary interactions. This implies that only half of patients who need warfarin therapy receive it. DAPT ACC and clopidogrel is indicated in patients with AF who cannot use warfarin.

**New oral anticoagulants (NOAC).** NOAC are designed to overcome the disadvantages of warfarin therapy. Direct thrombin inhibitors (gatrans), in particular dabigatran, combine with thrombin and block the conversion of fibrinogen to fibrin and the activation of V, VII, IX factors and TC.

NOAC, which selectively block thrombin (DBG) or Xa factor (PPB or apixaban), have a number of beneficial characteristics: good tolerability, rapid onset of action, minimal interaction with food and medicines, no need for monitoring and dose titration, proven efficacy and low risk of bleeding.

In the meta-analysis of controlled CTs, NOAC reduced mortality by 11% and 12%, systemic embolism by 18% and 23%, intracerebral hemorrhages by 21% and 54%. The annual absolute mortality risk was 2.4% and 2.8% for NOAC, and 3.1% and 3.5% for warfarin.

Four new CTs (RRB, apixaban and edoxaban) did not include patients taking clopidogrel. The combination of DBG with ACC and DAPT (ACC and clopidogrel) had little effect on the efficacy of DBG, while more DBG doses exceeded, and small ones were highly competitive with warfarin in efficacy without increasing the risk of bleeding. This data supports the evidence that ATT with NOAC does not contribute to greater efficacy, but increases the risk of bleeding. Patients with a high risk of bleeding should not use ATT in combination with NOAC. The use of apixaban at a dose of 5 mg 2 times a day, in ARIS-

TOTLE CT, conducted in 18201 patients with AF and ≥ 1 risk factor for stroke, showed a 1.8-year advantage over warfarin in reducing endpoints, ischemia, bleeding and mortality from all causes. Administering ACC did not influence the effect of apixaban, although the relative risk of stroke decreased from 42% to 16% without increasing bleeding. The use of apixaban in the form of monotherapy, or in combination with ASA, was safer than warfarin.

**Direct thrombin antagonists (gatrans). Dabigatran (DBG)** is a direct thrombin inhibitor for oral therapy. It is an alternative to warfarin, since it has similar efficacy indices but does not require monitoring of INR. In the United States, the approved and authorized antidote is idarucizumab. In the RE-LY study, DBG showed a higher efficacy compared with warfarin in preventing stroke and systemic emboli and an equal risk of major bleeding without affecting the course of heart failure.

**Blockers of Xa factor (apixaban, RRB, edoxaban).** Apixaban and RRB are the most studied inhibitors of Xa factor. Other inhibitors of Xa factor have been developed and applied in various stages of clinical use: edoxaban, otamixaban, darexaban, betrixaban and TAK-442. Among NOAC, apixaban DBG more effectively prevent strokes than warfarin in patients with non-valvular pathology. An additional advantage of NOAC is no effect of food and other medicines and no need to control the coagulation level by laboratory tests.

APB is recommended by the US National Institute of Health for prevention of stroke and systemic embolism in people with non-valvular AF and at least one of the risk factors (sustained stroke, transient ischemic attack, age of 75 years or above, diabetes and heart failure).

In the ARISTOTLE study, APB better prevented stroke development and systemic embolism in patients with AF. Administering APB demonstrated a less number of major bleeding with less mortality than with warfarin. In this study, one third of patients suffered from heart failure or reduction in left ventricular ejection fraction. In the AP-PRAISE-2 study – 5 mg APB 2 times a day, in addition to the standard ATT, – there was no reduction of ischemic episodes, but the risk of major bleeding significantly increased in patients with acute coronary syndrome and two additional risk factors of recurrent stroke. The study was withdrawn ahead of schedule due to a large amount of hemorrhages. In this study, 28% of patients suffered from heart failure. Mortality in patients with heart failure, treated with APB, was reduced by 23% as compared with 76 placebo.

In the ROCKET AF study, wherein 60% of patients had HF, RRB was no better than warfarin in preventing stroke, systemic embolism and hemorrhage frequency. Fewer cases of intracranial and fatal bleeding were observed.

In the ATLAS ACS-TIMI 51 study, 10% patients had HF and in this subgroup there were fewer complications than in the placebo group.

Meta-analysis of efficacy and safety in direct anticoagulants 11 clinical trials (DBG, apixaban, edoxaban and RRB) in the prevention of stroke and venous thromboembolism as compared with warfarin in patients above the age of 75 years, suffering from AF, showed that they have at least equal to warfarin effectiveness but varying degrees of safety. DBG 150 mg caused a statistically significant increase in gastrointestinal bleeding, but significantly reduced the number of hemorrhagic strokes. Apixaban and edoxaban reduced the risk of major bleed-

ing, and RRB did not differ from warfarin in terms of safety [18].

Research data on 44563 patients with AF have been published, which showed the absence of NOAC superiority in reducing the incidence of stroke and systemic embolism as compared to warfarin in 21095 patients with heart failure but having such superiority in patients without heart failure [17].

In another meta-analysis ("Direct oral anticoagulants for stroke prevention in patients with atrial fibrillation: meta-analysis by geographic region with a focus on European patients") [9], which included data on 72.963 patients, no advantages of NOAC were detected, as compared to warfarin in terms of efficacy, but a reduced tendency to bleeding was observed.

#### Method for using ATT in HF. Indications for using ATT in patients with heart failure:

- Atrial fibrillation (AF)
- Severe HF
- Thrombi of the left ventricle after sustained myocardial infarction
- Left ventricular aneurysm
- Acute coronary syndrome
- Previously sustained embolic episodes

**ATT risk assessment and bleeding hazard. CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc and HAS-BLED hazard ratings.** Every year, from 2.3% to 6.8% of patients receiving anticoagulants suffer from bleeding. The intensity of anticoagulation, in particular, the combination ATT and anticoagulant therapy, hypertension, previous cerebral ischemia, advanced age are the factors that predispose to bleeding. This data is used for prevention of bleeding.

When choosing a therapy, one should assess the risk of ischemic events and bleeding. To evaluate the possible ischemic events, European Consensus recommends CHADS<sub>2</sub> index (cardiac failure, hypertension, age, diabetes mellitus, stroke [doubled]) score). When its value is more than 2, oral anticoagulants are needed. If the index is from 0 to 1, double ATT is preferred.

The new scheme CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc (Table 1) takes into account more risk factors and risk of stroke in the population [4]. Under this scheme, oral anticoagulants are prescribed at CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc ≥ 2. When CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc is 1, ACC is prescribed, and at CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc = 0, anticoagulants are not prescribed at all.

HAS-BLED scale includes evaluating the risk of bleeding [16] (Table 1).

If the number of risk factors is ≥3, indicating a high risk of bleeding, one should very carefully weigh the benefit / harm ratio in the prescription of ATT. This index effectively predicts the chance of bleeding in patients receiving the triple therapy.

CHADS<sub>2</sub> and HAS-BLED risk scores may be useful for personalization and selection of ATT for patients with HF and AF [15].

#### The basic principles of ATT in patients with HF and AF, based on evidence-based medicine

1) Triple therapy should not be used in patients with low risk of stroke, CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc 0 or 1.

2) Warfarin therapy exceeds DAPT, despite the greater risk of bleeding, but it is important to obtain patient's consent to follow the rules of warfarin administering. Patients being less than 65% of time in the optimal INR zone, have advantages with respect to those receiving DAPT.

**ATT in HF patients with sinus rhythm.** A large number of randomized clinical trials with ATT and ACT have been conducted in patients with sinus rhythm. It has been found that warfarin reduces stroke more than ACC, but increases the number of hemorrhages. The authors of meta-analyses concluded the feasibility of ACC in patients at high risk of bleeding, and warfarin with a large number of risk factors for stroke. The use of ATT for prevention of stroke in patients with non-ischemic etiology requires further research.

**Conclusion.** HF in patients with atrial fibrillation increases the risk of venous thromboembolism, which is less evident in patients with heart failure and sinus rhythm. ATT is indicated to all patients with atrial fibrillation and heart failure. In choosing the ATT, one should be guided by the principles described above, and CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc and HAS-BLED indexes. ATT of patients with heart failure is associated with the presence of atherosclerotic vascular lesions. ATT is effective in many forms of heart disease, including patients with HF and AF, but the feasibility of anticoagulant or ATT was not proven in patients with sinus rhythm, although it is shown that heart failure is accompanied by TC activation and hypercoagulation, and there is evidence that warfarin therapy reduces the incidence of stroke in patients with HF. The risk of bleeding exceeds the antithrombotic effect in patients with sinus rhythm. The results of controlled studies do not allow us to recommend anticoagulant therapy for all patients with heart failure, but recommend it to persons at high risk, particularly in AF, with previously sustained thromboembolic episodes, a significant decrease in left ventricular ejection fraction, in intracardiac thromboses and the aneurysm. There is also no evidence to prescribed ATT to lower the risk of stroke and thromboembolism in patients with sinus rhythm. Moreover, ACC is associated with more frequent hospitalization of patients with HF. There is a weak evidence of the reduction in mortality with warfarin application as compared to ACC.

#### Reference

1. Gorbas' IM, Voronkov LG. Epidemiologichni aspekti hronichnoi sercevoi nedostatnosti u doroslogo naselennya Ukraini. Ukrain's'kij kardiologichnij zhurnal. 2008;4:8-12.
2. Perederij VG, Bezyuk NN. Serdechnaya nedostatochnost': kak uluchshit' kachestvo lecheniya? Zdorov'ya Ukraini. 2015 Mart 27;74. – URL: <http://health-ua.com/article/19069-serdechnaya-nedostatochnost-kak-uluchshit-kachestvo-lecheniya>
3. Rekomendacii ESC po diagnostike i lecheniyu ostroj i hronicheskoy serdechnoj nedostatochnosti 2016. Evropejskoe Obshestvo Kardiologov (ESC). Rossijskij kardiologicheskij zhurnal. 2017;1(141):7-81.
4. Barnes G.D., Gu X., Haymart B., Kline-Rogers E., Almany S., Kozlowski J., et al. The predictive ability of the CHADS<sub>2</sub> and CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc scores for bleeding risk in atrial fibrillation: the MAQI (2) experience // *Thromb Res.* – 2014. – Vol. 134. – P. 294–299.
5. Cleland J.G., Findlay I., Jafri S., et al. The Warfarin/Aspirin Study in Heart failure (WASH): a randomized trial comparing antithrombotic strategies for patients with heart failure // *Am. Heart J.* – 2004. – Vol. 148 (1). – P. 157–164.
6. Costa F., van Klaveren D., James S., Heg D., Raber L., Feres F., et al. Derivation and validation of the predicting bleeding complications in patients undergoing stent implantation and subsequent dual antiplatelet therapy (PRECISE-DAPT) score: a pooled analysis of individual-patient datasets from clinical trials // *Lancet.* – 2017. – Vol. 389. – P. 1025–1034.
7. Furberg C.D., Psaty B.M., Manolio T.A., Gardin J.M., Smith V.E., Rautaharju P.M. Prevalence of atrial fibrillation in elderly subjects (the Cardiovascular Health Study) // *Am. J. Cardiol.* – 1994. – Vol. 74 (3). – P. 236–241.



8. Gladstone D.J., Bui E., Fang J., Laupacis A., Lindsay M.P., Tu J.V. et al. Potentially preventable strokes in high-risk patients with atrial fibrillation who are not adequately anticoagulated // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40. – P. 235–240.
9. Gómez-Outes A.A., Terleira-Fernández A.I., Calvo-Rojas G., Suárez-Gea M.L., Vargas-Castrillón E. Direct oral anticoagulants for stroke prevention in patients with atrial fibrillation: meta-analysis by geographic region with a focus on European patients // *Br J Clin Pharmacol*. – 2016. – Vol. 82, Is. 3. – P. 633–644.
10. Gurbel P.A., Tantry U.S. Antiplatelet and Anticoagulant Agents in Heart Failure: Current Status and Future Perspectives // *JCHF*. – 2014. – 2 (1). – C. 1–14.
11. Halvorsen S., Storey R.F., Rocca B., Sibbing D., Ten Berg J., Grove E.L., et al. European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis. Management of antithrombotic therapy after bleeding in patients with coronary artery disease and/or atrial fibrillation: expert consensus paper of the European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis. – *Eur Heart J*. – 2017. – Vol. 38 (19). – P. 1455–1462.
12. Hansen M.L., Sorensen R., Clausen M.T., Fog-Petersen M.L., Raunso J., Gadsboll N., et al. Risk of bleeding with single, dual, or triple therapy with warfarin, aspirin, and clopidogrel in patients with atrial fibrillation // *Arch Intern Med*. – 2010. – Vol. 170. – P. 1433–1441.
13. Ho K.K., Pinsky J.L., Kannel W.B., Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study // *J Am Coll Cardiol*. – 1993. – Vol. 22. – P. 6A–13A.
14. James S.K., Roe M.T., Cannon C.P., Cornel J.H., Horrow J., Husted S., et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes intended for non-invasive management: substudy from prospective randomised Platelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial. – *BMJ*. – 2011. – Vol. 342. – P. d3527.
15. Lane D.A., Lip G.Y.H. Use of the CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc and HAS-BLED Scores to Aid Decision Making for Thromboprophylaxis in Nonvalvular Atrial Fibrillation // *Circulation*. – 2012. – Vol. 126. – P. 860–865.
16. Roldan V., Marin F., Manzano-Fernandez S., Gallego P., Vilchez J.A., Valdes M., et al. The HAS-BLED score has better prediction accuracy for major bleeding than CHADS<sub>2</sub> or CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc scores in anticoagulated patients with atrial fibrillation // *J Am Coll Cardiol*. – 2013. – Vol. 62. – P. 2199–2204.
17. Savarese G., Giugliano R.P., Rosano G.M., McMurray J., Magnani G., Filippatos G., et al. Efficacy and Safety of Novel Oral Anticoagulants in Patients With Atrial Fibrillation and Heart Failure: A Meta-Analysis // *JACC Heart Fail*. – 2016. – Vol. 4 (11). – P. 870–880.
18. Sharma M., Cornelius V.R., Patel J.P., Davies J.G., Mollokhia M. Efficacy and Harms of Direct Oral Anticoagulants in the Elderly for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation and Secondary Prevention of Venous Thromboembolism: Systematic Review and Meta-Analysis // *Circulation*. – 2015. – Vol. 132 (3). – P. 194–204.
19. Valgimigli M., Bueno H., Byrne R.A., Collet J.-P., Costa F., Jeppsson A. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The Task Force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) // *European Heart Journal*. – 2018. – Vol. 39, Is. 3. – P. 213–260.
20. Van Walraven C., Hart R.G., Connolly S., Austin P.C., Mant J., Hobbs F.D., et al. Effect of age on stroke prevention therapy in patients with atrial fibrillation: the Atrial Fibrillation Investigators // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40. – P. 1410–1416.
21. Zannad F., Stough W.G., Regnault V., Gheorghide M., Deliargyris E., Gibson C.M. et al. Is thrombosis a contributor to heart failure pathophysiology? Possible mechanisms, therapeutic opportunities, and clinical investigation challenges // *Int J Cardiol*. – 2013. – Vol. 67. – P. 1772–1782.

Матеріал надійшов до редакції 05.12.2017

© Недоборенко В.М., Кайдашев І.П., Лавренко А. В., Весніна Л. Е., Мамонтова Т.В.  
УДК 612.017:577.1:[616.155.194+616-056.52]-085-037:615.356-055.2

## ДОДАВАННЯ ДО ЛІКУВАННЯ КВЕРЦЕТИНУ ЗНИЖУЄ РІВЕНЬ ІНТЕРЛЕЙКІНУ 6 У ХВОРИХ ЖІНОК НА ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНУ АНЕМІЮ З ОЖИРІННЯМ\*

Недоборенко В.М., Кайдашев І.П., Лавренко А. В., Весніна Л. Е., Мамонтова Т.В.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

*По современным представлениям при ожирении (ОЖ) наблюдается состояние хронического низко интенсивного воспаления с повышенным содержанием провоспалительных цитокинов с привлечением факторов транскрипции, в частности нуклеарных  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) и может сопровождаться изменением концентрации железа в сыворотке крови. Кверцетин позиционирует как противовоспалительное вещество супрессивного влияния NF- $\kappa\text{B}$ . Целью исследования стало определить влияние включения кверцетина в комплексное лечение на маркеры системного воспаления у больных женщин с железодефицитной анемией (ЖДА) и ОЖ. В исследовании приняли участие 30 больных женщин ЖДА с сопутствующим ОЖ. Оценивали показатели гемограммы, параметров обмена железа (сывороточное железо, ферритин, гепсидин, общая железосвязывающая способность сыворотки крови, насыщение трансферрина железом) и маркеров воспаления: С - реактивного белка (СРБ) и интерлейкина-6 (ИЛ-6) в сыворотке крови до и после лечения сульфатом железа. Все пациенты были женского пола со средним возрастом  $40,3 \pm 7,59$  лет. При распределении больных по причине возникновения, степени тяжести ЖДА и базисными показателями достоверной разницы между группами не было ( $p > 0,05$ ). В процессе лечения СРБ и гепсидин имели значительную достоверную расхождение между ними на основной так и в контрольной группе ( $p < 0,05$ ), но в противовес этому отсутствовало расхождение между ними на  $60 \pm 3$  дня лечения ( $p > 0,05$ ). ИЛ -6 на  $60 \pm 3$  дня лечения имел достоверное снижение показателя в основной группе в противовес контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Ферритин в процессе лечения имел значительное достоверную расхождение между основной и контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Комплексное лечение с добавлением препарата кверцетину больным женщинам ЖДА с сопутствующим ОЖ снижает уровень ИЛ-6 и способствует более быстрому восстановлению депо железа.*

**Ключевые слова:** железодефицитная анемия, ожирение, кверцетин.

### Вступ

З сучасних позицій, ожиріння (ОЖ) розглядається як запальний процес, що розвивається в результаті ліполізу з подальшою активною секрецією жирової тканини низки протеїнів, які об'єднуються в групу адипокіні [1], з характерним підвищенням в плазмі крові клітинних біомаркерів запалення без будь-яких видимих клінічних ознак, що в свою чергу призводить до розвитку хронічного низько інтенсивного запалення та часто відбувається за рахунок факторів транскрипції, зокрема нуклеарного  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ), що є найбільш важливим прозапальним ядерним транскрипційним фактором, який відповідає на більшу частину зовнішніх і внутрішніх стимулів та провокує запалення, активуючи або пригнічуючи транскрипцію безлічі генів, що беруть участь у запальній реакції [8].

Внаслідок підвищеного вмісту прозапальних цитокинів, таких як інтерлейкін - 6 (ІЛ-6) та С-реактивний білок (СРБ) в сироватці крові, підвищується експресія гену гепсидина [3] - пептидного гормону, який є основним регуляторним білком системного метаболізму заліза, посередником імунного захисту та запалення [6]. Як наслідок цієї взаємодії, поглинання заліза з їжі знижується шляхом гепсидин - опосередкованого зменшення експресії феропортину еритроцитів (єдиним відомим на сьогодні експортером заліза), що призводить до зниження вмісту циркулюючого рівнів заліза, яке посилюється пригніченням експорту його з макрофагів шляхом того ж механізму.

Ожиріння підвищує рівень гепсидину та зменшує відповідь на пероральне лікування препаратами заліза залізодефіцитної анемії у дітей [11].

Кверцетин (3,3',4',5,7-пентагідроксифлавонон), член родини біофлавоноїдів є одним із найбільш поширених компонентів їжі, який міститься в овочах, фруктах, чаї та вині. Кверцетин позиціонує як протизапальна речовина з супресивним впливом на NF- $\kappa\text{B}$ .

Мета роботи: визначити вплив включення кверцетину до комплексного лікування на маркери системного запалення у хворих жінок з залізодефіцитною анемією (ЗДА) та ОЖ.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження було проведено з дозволу комісії з біоетики Української медичної стоматологічної академії, усі обстежені особи підписали добровільну інформовану згоду.

Обстежено 30 хворих жінок на ЗДА із супутнім ОЖ, що знаходились на лікуванні у поліклінічному відділенні 1-ої міської клінічної лікарні м.Полтава в період з березня 2016 року по січень 2017 року, які були розподілені на основну групу - 15 хворих ( $n=15$ ), що приймали як базисне лікування препарат сульфат заліза ("Евромедекс", Франція), по 1 таблетці (еквівалентно 80 мг заліза (II)) 2 рази на день за 30 хвилин до їжі) з додатковим призначенням перорально препарату кверцетину в добовій дозі 4,0 (ЗАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ", м.Київ, Україна) та контрольну групу - 15 хворих ( $n=15$ ), що приймали лише базисне лікування.

\* Цитування при атестації кадрів: Недоборенко В.М., Кайдашев І.П., Лавренко А. В., Весніна Л. Е., Мамонтова Т.В. Додавання до лікування кверцетину знижує рівень інтерлейкіну 6 у хворих жінок на залізодефіцитну анемію з ожирінням. // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 34–36.

Критеріями включення була наявність ЗДА, що встановлена на основі: рівня гемоглобіну (Hb)  $\leq 120$  г/л для жінок, ознак мікроцитозу та гіпохромної анемії Mean Corpuscular Volume (MCV)  $\leq 80$  фл, Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)  $\leq 27,5$  пг, Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)  $\leq 335$  г/л, за наявності рівня сироваткового заліза (СЗ)  $< 5$  мкмоль/л та рівня феритину  $\leq 12$  нг/мл в сироватці крові. Ступінь тяжкості анемії визначався відповідно наказу МОЗ України № 709 від 02. 11. 2015 року.

Визначення гематологічних параметрів крові проводилися на гематологічному аналізаторі BC3000 Plus Mindray, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., Китай.

Визначення рівня заліза в сироватці крові проводили фотометричним методом набором реагентів ТОВ "СпайнЛаб", Україна.

Рівень феритину (ООО «Алкор-Био», Росія), гепсидину (Peptide Enzyme Immunoassay (EIA) Protocols, Peninsula Laboratories, LLC, США), СРБ (ООО «Хема», Росія) та ІЛ-6 (ЗАТ «Вектор-Бест», Росія) в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу.

Також всім пацієнтам проводили визначення рівня загального білку, загального білірубину, АЛТ, АСТ, креатиніну, ендоскопічні та рентгенологічні обстеження шлуночко-кишкового тракту, для виключення виразково - запальних захворювань на момент дослідження.

Для всіх хворих обстеження включало вимірювання антропометричних показників: зріст, маса тіла, окружність талії та стегон, обчислення індексу маси тіла (ІМТ). Індекс розраховується як відношення маси тіла в кілограмах (кг) до квадрату зросту в метрах (м<sup>2</sup>).

ОЖ у дорослих встановлювалося згідно визначення ВООЗ на основі індексу маси тіла  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>.

Характер розподілу жирової тканини визначається за допомогою коефіцієнта окружність талії/окружність

стегон (ОТ/ОС). Величина ОТ/ОС жінок  $> 0,85$  свідчить про абдомінальний тип ОЖ.

Із дослідження було виключено хворих, які на момент дослідження вживали препарати заліза протягом останніх 3 місяців, вживали частіше ніж до 3 разів на тиждень НПЗП протягом останніх 6 місяців, стани зі значними кровотечами за останні 6 місяців, онкопатологію, аутоімунні захворювання, гострі та хронічні захворювання, що можуть призвести до тканинної гіпоксії, хронічна ниркова недостатність, хронічні захворювання печінки з гепатоцелюлярною недостатністю, вегетаріанство, вагітність та лактація.

Статистична обробка отриманих даних виконана за допомогою програмного пакета SPSS 17.0. Достовірність розбіжностей (p) оцінювали за t-критерієм Ст'юдента для незалежних вибірок та статистики парних вибірок. Для аналізу статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Всі пацієнти були жіночої статі з середнім віком  $40,3 \pm 7,59$  років. При розподілу хворих за причиною виникнення та ступенем тяжкості ЗДА встановлено відсутність вірогідної різниці між групами.

В порівнянні антропометричних даних та показників гемограми статистичної різниці між жінками не було.

Аналіз величини співвідношення ОТ/ОС виявив, що всі жінки мали абдомінальний тип відкладення жирової тканини.

Базисні показники Hb, MCV, MCHC, MCH, C3, ЗЗС та НТЗ у групах жінок хворих на ЗДА з ОЖ мали в порівнянні між собою статистично не значимі розбіжності щодо цих параметрів ( $p > 0,05$ ).

Достовірної розбіжності між групами в показниках гемограми на початок лікування та  $60 \pm 3$  дні лікування не було ( $p > 0,05$ ) (табл. 1).

Таблиця 1.  
Динаміка змін показників гемограми хворих жінок на ЗДА з ОЖ (M $\pm$ SD)

Показник, одиниця виміру	Основна група (n = 15)		Контрольна група (n = 15)	
	0 день	60 $\pm$ 3дні	0 день	60 $\pm$ 3дні
Еритроцити, 10 <sup>9</sup> /л	3,9 $\pm$ 0,2	4,36 $\pm$ 0,17†	3,98 $\pm$ 0,26	4,27 $\pm$ 0,15†
Hb, г/л	89,8 $\pm$ 10,4	122,4 $\pm$ 2,4†	90,4 $\pm$ 10,3	121,2 $\pm$ 3,2†
MCV, фл	72,3 $\pm$ 4,5	83,3 $\pm$ 1,7†	71,6 $\pm$ 5,1	82,9 $\pm$ 2,1†
MCHC, г/л	314,0 $\pm$ 19,8	337,2 $\pm$ 10,2†	316,6 $\pm$ 19,42	336,6 $\pm$ 12,0†
MCH, г/л	22,6 $\pm$ 1,8	28,0 $\pm$ 0,9†	22,6 $\pm$ 1,95	27,9 $\pm$ 1,0††

\*-  $p < 0,05$  достовірна розбіжність від контрольної групи

†-  $p < 0,05$  достовірна розбіжність між парними вибірками

В процесі лікування СРБ мав значну достовірну розбіжність як в основній так і в контрольній групі ( $p < 0,05$ ), але на протипагу цьому відсутня розбіжність між ними на  $60 \pm 3$  дні лікування ( $p > 0,05$ ).

ІЛ -6 на  $60 \pm 3$  дні лікування мав достовірне зниження показника в основній групі на протипагу контрольній групі ( $p < 0,05$ ).

Гепсидин як до лікування так і після лікування не мав достовірної розбіжності між групами ( $p < 0,05$ ). На протипагу цьому феритин в процесі лікування мав значну достовірну розбіжність між основною та контрольною групою ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Таблиця 2.  
Динаміка маркерів запалення та показників обміну заліза при комплексному лікуванні хворих на ЗДА з ОЖ (M $\pm$ SD).

Показник, одиниця виміру	Основна група (n = 15)		Контрольна група (n = 15)	
	0 день	60 $\pm$ 3дні	0 день	60 $\pm$ 3дні
СРБ, мг/мл	5,9 $\pm$ 2,0	14,6 $\pm$ 9,1†	5,8 $\pm$ 1,9	13,9 $\pm$ 10,0†
ІЛ-6, пг/мл	1,5 $\pm$ 0,9	0,9 $\pm$ 0,8*†	1,6 $\pm$ 0,8	1,8 $\pm$ 1,3
Гепсидин, нг/мл	18,2 $\pm$ 11,6	6,8 $\pm$ 4,8†	15,1 $\pm$ 12,5	5,7 $\pm$ 3,7†
Феритин, нг/мл	4,8 $\pm$ 2,9	33,3 $\pm$ 12,2*†	4,7 $\pm$ 2,5	25,6 $\pm$ 11,9†

\*-  $p < 0,05$  достовірна розбіжність від контрольної групи

†-  $p < 0,05$  достовірна розбіжність між парними вибірками

За сучасними уявленнями при ожирінні спостерігається стан хронічного низько інтенсивного запалення, що виникає внаслідок збільшення маси жирової тканини та надмірної продукції медіаторів запалення, зокрема ІЛ-6 та СРБ[7]. Цілком можливо, що прозапальні цитокіни викликають більшу експресію гепсидину і підвищують синтез феритину в ретикулоендотеліальних клітинах [10], внаслідок чого зменшується абсорбція заліза в умовах підвищеного зберігання заліза, будь то в межах ретикулоендотеліальної системи або всередині адипоцитів. Клінічно, можна було б очікувати, що це призведе до поєднання дефіциту сложитого заліза та функціонального дефіциту заліза [12].

В нашому дослідженні відсутня достовірна розбіжність впливу кверцитину на СРБ, що співставлено з попередньо проведеним дослідженням осіб з ОЖ та надмірною вагою з метаболічним синдромом [5].

Наші дані щодо іншого маркера запальної реакції ІЛ-6, який мав достовірне зменшення на  $60 \pm 3$  дні комплексного лікування в основній групі в порівнянні з контрольною ( $0,9 \pm 0,8$  та  $1,8 \pm 1,5$  пг/мл відповідно) та узгоджуються з проведеним дослідженням у хворих на бронхіальну астму у поєднанні із вісцеральним ожирінням [2].

Гепсидин, що є гострофазним реагентом в нашому дослідженні не мав достовірних розбіжностей в групах як до так і після лікування, не зважаючи на позитивну кореляцію з ІЛ-6 [3], що можливо пояснити відсутністю в хворих жінок визначного ступеня ожиріння Cheng et al. [4] and Karl et al. [9].

Дані нашого дослідження показали статистичну значимість впливу комплексного лікування з додаванням кверцитину на феритин, як білка гострої фази запалення, в основній групі при порівнянні з контрольною ( $33,3 \pm 12,2$  та  $25,6 \pm 11,9$  нг/мл відповідно), що вірогідно, зумовлює його протизапальну активність.

#### Висновок

Комплексне лікування з додаванням препарату кверцитину хворим жінкам на ЗДА із супутнім ОЖ знижує рівень ІЛ-6 та сприяє швидшому відновленню депо заліза.

#### Література

1. Дворецкий Л. И. Ожирение и железодефицит. Еще одна коморбитность?. Архивъ внутренней медицины. 2015;5: 9–16.
2. Фадеева Г.А. Клініко-імунологічна ефективність застосування кверцитину у хворих на бронхіальну астму у поєднанні із вісцеральним ожирінням. Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. 2009;2 (Т.1): 162-167.
3. Bekri S., Gual P. Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. Gastroenterology. 2006; 131: 788-796.
4. Cheng HL, Bryant CE, Rooney KB et al. Iron, hepcidin and inflammatory status of young healthy overweight and obese women in Australia. PloS One. 2013; 8(7):e68675. doi.org/10.1371/journal.pone.0068675
5. Egert S, Boesch-Saadatmandi C, Wolfram S, et al. Serum lipid and blood pressure responses to quercetin vary in overweight patients by apolipoprotein E genotype. J Nutr 2010;140:278-284.
6. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. Blood. 2003; 102(3):783–788.
7. Greenberg AS, Obin MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nutr. 2006; 83:461-465.
8. Kaïdashev IP. NF-κB activation as a molecular basis of pathological process by metabolic syndrome. Fiziol Zh. 2012;58(1):93-101. Review. Ukrainian.
9. Karl JP, Lieberman HR, Cable SJ et al. Poor iron status is not associated with overweight or overfat in non-obese pre-menopausal women. J Am Coll Nutr. 2009; 28(1): 37–42.
10. Rogers JT: Ferritin translation by interleukin-1 and interleukin-6: the role of sequences upstream of the start codons of the heavy and light subunit genes. Blood 1996; 87:2525-2537.
11. Sanad M, Osman M, Gharib A. Obesity modulate serum hepcidin and treatment outcome of iron deficiency anemia in children: A case control study. Italian Journal of Pediatrics. 2011; 37:34. doi.org/10.1186/1824-7288-37-34
12. Yanoff LB, Menzie CM, Denkinger B, Sebring NG, McHugh T, Remaley AT, Yanovski JA: Inflammation and iron deficiency in the hypoferrremia of obesity. Int J Obes (Lond) 2007; 31(9):1412-19.

## ENGLISH VERSION: INCLUSION OF QUERCETIN IN TREATMENT REDUCES THE LEVEL OF INTERLEUKIN 6 IN WOMEN WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA AND OBESITY\*

V. M. Nedoborenko, I.P. Kaidashev, A.V. Lavrenko, L.E. Vesnina, T.V. Mamontova

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine

*According to the modern concepts of obesity (O), there is a condition of chronic low intensity inflammation with high content of proinflammatory cytokines, involving transcription factors, in particular nucleic Kb (NF-kB), which may be accompanied by a change in the concentration of iron in the serum. Quercetin is positioned as an anti-inflammatory agent with suppressive effects on NF-kB. The aim of the research was to determine the effect of quercetin inclusion on the systemic inflammatory markers in the comprehensive treatment of women with iron deficiency anemia (IDA) and O. Methods: 30 women with IDA and O participated in the study. Hemogram indicators, parameters of iron exchange (serum iron, ferritin, hepcidin, total iron binding capacity of serum, saturation of transferrin by iron) and inflammation markers were evaluated: C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) in serum before and after treatment with iron sulfate. All patients were females of an average age of 40.3±7.59 years. In the distribution of patients based on the origin of the disease, the severity of IDA and basic indicators, there was no reliable difference between the groups ( $p>0.05$ ). In the process of treatment, CRP and hepcidin had a significant difference in the comparison and study group ( $p<0.05$ ), but in contrast, there was no difference between them on the 60th ± 3 days of treatment ( $p<0.05$ ). IL-6 on the 60th ± 3 days of treatment revealed a significant decrease in the study group as opposed to the comparison group ( $p<0.05$ ). In the course of treatment, ferritin had a significant difference between the comparison and study groups ( $p<0.05$ ). Conclusion. Comprehensive treatment with inclusion of quercetin in female patients with IDA and O reduces the level of IL-6 and promotes the recovery of the iron depot.*

**Key words:** iron deficiency anemia, obesity, quercetin.

### Introduction

From the modern point of view, obesity (O) is considered as an inflammatory process, which develops as a result of lipolysis with subsequent active secretion in adipose tissues of a series of proteins, which are grouped into an adipocytin group [1]. This is accompanied by a characteristic increase of cellular inflammation biomarkers in blood plasma without any visible clinical signs, which in turn leads to the development of chronic low-intensity inflammation and often occurs due to transcription factors, in particular nucleic kB (NF-kB). NF-kB is the most important pro-inflammatory nuclear transcriptional factor that responds to most of external and internal stimuli and provokes inflammation, activating or suppressing the transcription of many genes involved in the inflammatory response [8].

The high content of proinflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) in serum, increases the expression of hepcidin [3], which is a peptide hormone and the main regulatory protein of the systemic iron metabolism, mediator of immune protection and inflammation [6]. As a result of this interaction, the absorption of iron from food is decreased by hepcidin-mediated reduction of expression of enterocytes ferroportin (the only exporter of iron known as of today), that leads to a decrease in the content of circulating levels of iron, which is aggravated by inhibition of its export from macrophages by the same mechanism.

Obesity increases the level of hepcidin and reduces the response to oral treatment with iron preparations of iron deficiency anemia in children [11].

Quercetin (3,3',4',5,7- pentahydroxyflavone), a member of the bioflavonoids family, is one of the most common food components found in vegetables, fruits, tea,

and wine. Quercetin is positioned as an anti-inflammatory agent with suppressive effects on NF-kB.

The aim of the research is to determine the effect of quercetin inclusion on the systemic inflammatory markers in the comprehensive treatment of women with iron deficiency anemia (IDA) and O.

### Materials and methods

The study was conducted with the permission of Bioethics Commission of Ukrainian Medical Stomatological Academy, all subjects signed the voluntary informed consent.

We examined 30 patients with IDA and concomitant O that were treated at the polyclinic department of the 1st City Clinical Hospital of Poltava in the period from March 2016 to January 2017. Patients were distributed in the study group - 15 patients ( $n=15$ ), receiving the basic treatment with iron sulfate ("Euromedox", France), 1 tablet (equivalent to 80 mg of iron (II)) 2 times a day, 30 minutes before meals) with oral inclusion of quercetin at a daily dose of 4.0 (Closed JSC "Borschagivsky ChPhP", Kyiv, Ukraine) and the comparison group - 15 patients ( $n=15$ ), receiving only the basic treatment.

The inclusion criteria included the presence of IDA that was diagnosed on the basis of: hemoglobin level (Hb)  $\leq 120$  g / L for women, signs of microcitosis and hypochromic anemia, mean corpuscular volume (MCV)  $\leq 80$  fl, mean corpuscular hemoglobin (MCH)  $\leq 27.5$  pg, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)  $\leq 335$  g/l, in the presence of serum iron (SC)  $< 11.5$   $\mu\text{mol/L}$  and ferritin level  $\leq 12$  ng/ml in serum. The degree of severity of anemia was determined in accordance with the order of Ministry of Public Health of Ukraine No. 709 as of 02/11/2015.

\* To cite this English version: V. M. Nedoborenko, I.P. Kaidashev, A.V. Lavrenko, L.E. Vesnina, T.V. Mamontova Inclusion of quercetin in treatment reduces the level of interleukin 6 in women with iron deficiency anemia and obesity // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 37-39.

Determination of blood hematological parameters was performed on the analyzer BC3000 Plus Mindray, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd., China.

The level of iron in the blood serum was determined by photometric method using a set of reagents of "SpaynLab", Ukraine.

The level of ferritin (LLC «Alkor-Bi», Russia), hepcidin (Peptide Enzyme Immunoassay (EIA) Protocols, Peninsula Laboratories, LLC, USA), CRP (LLC «Gema», Russia) and IL-6 (JSC «Vector-Best, Russia) in the blood serum was carried out by the enzyme-immunoassay method.

Furthermore, all patients were examined as to the level of total protein, total bilirubin, ALT, AST, creatinine. To exclude ulcerative and inflammatory diseases at the time of the study, patients underwent endoscopic and X-ray examination of the gastrointestinal tract.

For all patients, examination included measurements of anthropometric indicators: height, body weight, waist and hip circumferences, body mass index (BMI). The index is calculated as the ratio of the body weight in kilograms (kg) to the square of the body height in meters (m<sup>2</sup>).

O in adults is diagnosed according to the WHO definition based on the body mass index  $\geq 30$  kg / m<sup>2</sup>.

The distribution of adipose tissue is determined by the coefficient of waist and hip circumferences. The waist and hip circumferences ratio in women  $> 0.85$  indicates the abdominal type of O.

The study excluded patients who at the time of the study: consumed iron preparations for the last 3 months, used NSAIDs more than 3 times a week during the last 6 months, had conditions associated with significant bleed-

ing over the past 6 months, oncopathology, autoimmune diseases, acute and chronic diseases that can lead to tissue hypoxia, chronic renal insufficiency, chronic liver disease with hepatocellular insufficiency, vegetarianism, pregnancy and lactation.

The statistical processing of the obtained data was performed using the SPSS 17.0 software package. The reliability of discrepancies (p) was estimated according to Student's t-test for independent samples and statistics of paired samples. For analysis, differences at  $p < 0.05$  were considered statistically significant.

**Results and discussion**

All patients were females of an average age of  $40.3 \pm 7.59$  years. In the distribution of patients based on the origin of the disease and the severity of IDA, there was no reliable difference between the groups

As compared to anthropometric data and hemogram parameters, there was no statistical difference between the examined women.

The analysis of the ratio of waist and hip circumferences revealed that all women had an abdominal type of adipopexia.

The baseline parameters of Hb, MCV, MCHC, MCH, serum iron, total iron binding capacity and transferrin saturation in the groups of women with IDA and O had statistically significant differences in these indicators ( $p > 0.05$ ).

There was no significant difference between the groups in the hemogram rates at the beginning of treatment and on the  $60th \pm 3$  days of treatment ( $p > 0.05$ ) (Table 1).

Table 1. Dynamics in the hemogram parameters in female patients with IDA and O (M $\pm$ SD)

Parameter, unit of measurement	Study group (n =15)		Comparison group (n =15)	
	0 day	60th $\pm$ 3 days	0 day	60th $\pm$ 3 days
Erythrocytes, 10 <sup>9</sup> /L	3.9 $\pm$ 0.2	4.36 $\pm$ 0.17†	3.98 $\pm$ 0.26	4.27 $\pm$ 0.15†
Hb, g / l	89.8 $\pm$ 10.4	122.4 $\pm$ 2.4†	90.4 $\pm$ 10.3	121.2 $\pm$ 3.2†
MCV, fl	72.3 $\pm$ 4.5	83.3 $\pm$ 1.7†	71.6 $\pm$ 5.1	82.9 $\pm$ 2.1†
MCHC, g / l	314.0 $\pm$ 19.8	337.2 $\pm$ 10.2†	316.6 $\pm$ 19.42	336.6 $\pm$ 12.0†
MCH, g / l	22.6 $\pm$ 1.8	28.0 $\pm$ 0.9†	22.6 $\pm$ 1.95	27.9 $\pm$ 1.0†

\* -  $p < 0.05$  significant variation from the comparison group

† -  $p < 0.05$  significant difference between paired samples

In the course of treatment, CRP, had a significant difference in the comparison and study groups ( $p < 0.05$ ), but, contrary to this, there was no discrepancy between these indicators on the  $60th \pm 3$  days of treatment ( $p < 0.05$ ).

IL-6 on the  $60th \pm 3$  days of treatment had a significant decrease in the study group as opposed to the comparison group ( $p < 0.05$ ).

Hepcidin, both before and after treatment, did not have a significant difference in the groups ( $p < 0.05$ ). By contrast, ferritin in the treatment process had a significant difference between the comparison and study groups ( $p < 0.05$ ) (Table 2).

Table 2. Dynamics of inflammation markers and indicators of iron metabolism in the comprehensive treatment of patients with IDA and O (M $\pm$ SD).

Parameter, unit of measurement	Study group (n =15)		Comparison group (n =15)	
	0 day	60th $\pm$ 3 days	0 day	60th $\pm$ 3 days
CRP, mg / ml	5.9 $\pm$ 2.0	14.6 $\pm$ 9.1†	5.8 $\pm$ 1.9	13.9 $\pm$ 10.0†
IL-6, pg / ml	1.5 $\pm$ 0.9	0.9 $\pm$ 0.8*	1.6 $\pm$ 0.8	1.8 $\pm$ 1.3
Hepcidin, ng / ml	18.2 $\pm$ 11.6	6.8 $\pm$ 4.8†	15.1 $\pm$ 12.5	5.7 $\pm$ 3.7†
Ferritin, ng / ml	4.8 $\pm$ 2.9	33.3 $\pm$ 12.2*†	4.7 $\pm$ 2.5	25.6 $\pm$ 11.9†

\* -  $p < 0.05$  significant variation from the comparison group

† -  $p < 0.05$  significant difference between paired samples

According to modern concepts of obesity, there is a condition of chronic low intensity inflammation that occurs

due to the increase in the mass of adipose tissue and excessive production of inflammation mediators, in particu-

lar IL-6 and CRP [7]. It is possible that proinflammatory cytokines cause greater expression of hepcidin and increase the synthesis of ferritin in reticuloendothelial cells [10], which results in reduced absorption of iron under conditions of high iron storage, whether within the limits of the reticuloendothelial system or within adipocytes. Clinically, it might be expected that this would lead to a combination of consumed iron deficiency and functional iron deficiency [12].

In our research, there was no significant difference in the effect of quercetin on CRP, as compared to the previous study of patients with O and overweight with metabolic syndrome [5].

Our data as to another marker of IL-6 inflammatory response, which had a significant decrease on the 60th ± 3 days of comprehensive treatment in the study group as opposed to the comparison group ( $0.9 \pm 0.8$  and  $1.8 \pm 1.5$  pg / ml, respectively) are consistent with a study conducted in patients with bronchial asthma in combination with visceral obesity [2].

Hepcidin, which is an acute phase reagent, in our study had no significant differences in the groups before and after treatment, despite a positive correlation with IL-6 [3], which may be explained by the absence of a significant degree of obesity in female patients (Cheng et al. [4] and Karl et al. [9]).

The data of our research showed the statistical significance of the effect of comprehensive treatment with quercetin inclusion on ferritin, as a protein of acute phase of inflammation, in the study group as opposed to the comparison group ( $33.3 \pm 12.2$  and  $25.6 \pm 11.9$  ng / ml respectively), which probably determines its anti-inflammatory activity.

### Conclusion

Comprehensive treatment with inclusion of quercetin in female patients with IDA and O reduces the level of IL-6 and promotes the recovery of the iron depot.

### Reference

1. Dvyezkiy L. I. Ozhirenie i zhelezodefizit. Esche odna komorbitnost'?. Archiv' vnutrenney mediziny. 2015;5: 9–16.
2. Fadeeva G.A. Kliniko-imunologichna efekтивnist' zastosuvannya kverzetinu u chvorich na bronchial'nu astmu u poednanni iz viszeral'nim ozhirinniam. Visnik Sums'kogo derzhavnogo universitetu. Seriya Medizina. 2009;2 (T.1): 162-167.
3. Bekri S., Gual P. Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. Gastroenterology. 2006; 131: 788-796.
4. Cheng HL, Bryant CE, Rooney KB et al. Iron, hepcidin and inflammatory status of young healthy overweight and obese women in Australia. PloS One. 2013; 8(7):e68675. doi.org/10.1371/journal.pone.0068675
5. Egert S, Boesch-Saadatmandi C, Wolfram S, et al. Serum lipid and blood pressure responses to quercetin vary in overweight patients by apolipoprotein E genotype. J Nutr 2010;140:278-284.
6. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. Blood. 2003; 102(3):783–788.
7. Greenberg AS, Obin MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nutr. 2006; 83:461-465.
8. Kařdashev IP. NF-kB activation as a molecular basis of pathological process by metabolic syndrome. Fiziol Zh. 2012;58(1):93-101. Review. Ukrainian.
9. Karl JP, Lieberman HR, Cable SJ et al. Poor iron status is not associated with overweight or overfat in non-obese premenopausal women. J Am Coll Nutr. 2009; 28(1): 37–42.
10. Rogers JT: Ferritin translation by interleukin-1 and interleukin-6: the role of sequences upstream of the start codons of the heavy and light subunit genes. Blood 1996; 87:2525-2537.
11. Sanad M, Osman M, Gharib A. Obesity modulate serum hepcidin and treatment outcome of iron deficiency anemia in children: A case control study. Italian Journal of Pediatrics. 2011;37:34. doi.org/10.1186/1824-7288-37-34
12. Yanoff LB, Menzie CM, Denkinger B, Sebring NG, McHugh T, Remaley AT, Yanovski JA: Inflammation and iron deficiency in the hypoferrremia of obesity. Int J Obes (Lond) 2007; 31(9):1412-19.

Матеріал надійшов до редакції 22.11.2017

## PECULIARITIES OF HELP MANAGEMENT TO PATIENTS WITH ACUTE OTITIS MEDIA COMPLICATED BY MASTOIDITIS\*

H.Ye. Timen<sup>1</sup>, M.I. Bezeha<sup>2</sup>

<sup>1</sup> A.I. Kolomiichenko Institute of Otolaryngology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine

<sup>2</sup> M.V. Sklifosovskiyi Poltava Regional Clinical Hospital

*Today, signs of transition from the stage of inflammation - antrocellulitis (inflammation of the lining cells of the mastoid process) to mastoiditis (purulent fusion of bone cells and systems of mastoid process) have not been studied and identified. The purpose of this work is to improve the treatment of patients with acute mastoiditis by new scheme to use conservative therapy and modified antromastoidotomy with drainage. The study was conducted in hospitals, in the Otolaryngology department of Poltava Regional Hospital and Otolaryngology department of Hospital No.2. All patients with acute otitis media were divided into 2 groups: group 1 (n = 48) and comparison group: (group 2 n = 35). In patients of subgroups 1-B and 1- D of investigated group, new developed technique of surgical sanitation of papillary process with draining the atico-antral rubber drainage and postoperative cavity such as teflon tubes with momentary wound suturing was used. Patients of 1-B group underwent tunnel antrotomy. In cases where we observed the phenomena of destruction and necrosis, antromastoidotomy was conducted by our own methodology. Endoscopic methods were used during surgery. During the treatment of patients with acute mastoiditis it is necessary to know and understand clinical signs of disease, data of cone-beam CT, the presence of atico-antral connection, which probably depends on the anatomical features of the structure of the middle ear and the severity and prevalence of inflammatory process. Morphological data necessitate the inclusion of antiviral drugs, in the scheme of treatment which significantly increases the effectiveness of treatment of patients with acute mastoiditis.*

**Key words:** acute mastoiditis, papillary process, morphological studies, immunotherapy, antrotomy, mastoidotomy.

*Сегодня не изучены признаки перехода от стадии воспаления - антроцелюлита (воспаление слизистой оболочки ячеек сосцевидного отростка) до мастоидита (гнояного расплавления костных перемычек системы ячеек сосцевидного отростка) и не определены четкие показания к срокам и объему хирургического вмешательства. Цель данной работы - повышение эффективности лечения больных острым мастоидитом путем использования новой схемы консервативной терапии и модифицированной антромастоидотомией с дренированием. Исследование проводилось в лечебных учреждениях: на базе ЛОР-отделения Полтавской областной клинической больницы, и ЛОР-отделения 2 городской клинической больницы Полтавы. Всего в период с 2009 по 2016 годы было обследовано и пролечено 83 пациента, больных острым средним отитом, осложненным мастоидитом. Все пациенты были разделены на 2 группы - исследуемая - 1 группа (n = 48) и группа сравнения - 2 группа (n = 35). Результаты. У пациентов 1-б и 1-в исследуемой группы, нами применялась разработанная новая методика хирургической санации сосцевидного отростка с дренированием атикоантрального хода резиновым дренажом, а послеоперационной полости - тefлоновыми трубками с одномоментным ушиванием послеоперационной раны. Пациентам исследуемой 1-б группы проводилась туннельная антротомия, целью которой было выяснение состояния ячеек сосцевидного отростка. В случае, когда наблюдались явления их деструкции и некроза, проводили антромастоидотомию по собственной методике. При проведении хирургического вмешательства использовалась эндоскопическая методика, проводилась пневматическая проба на проходимость атико-антрального соустья. Выводы. При назначении лечения больным острым мастоидитом необходимо принимать во внимание, кроме клинических признаков заболевания, данные конусно-лучевой компьютерной томографии, наличие сохранения аттико-антрального сообщения, которое, вероятно, зависит от анатомических особенностей строения среднего уха и степени выраженности и распространенности воспалительного процесса. Морфологические данные диктуют необходимость включения в схему терапии противовирусных препаратов, что значительно повышает эффективность лечения больных острым мастоидитом.*

**Ключевые слова:** острый мастоидит, сосцевидный отросток, морфологическое исследование, иммунотерапия, антротомии, мастоидотомия.

Ear disorders constitute 28-35% of all diseases in Otolaryngology [1, 14, 22, 32, 34]. 33% of patients suffer from involved in acute otitis media [17, 23], and out of them in 7-8% of cases the spread of inflammation o papillary process is observed [15]. In 16% of cases acute mastoiditis can cause the development of intracranial complications, among them perisinuous abscess, sinus thrombosis, abscesses of brain and cerebellum [15, 16, 25].

Methods for treatment of patients with acute purulent otitis media are not effective nowadays.

Today, signs of transition from the stage of inflammation - antrocellulitis (inflammation of the lining cells of the mastoid process) to mastoiditis (purulent fusion of bone cells and systems of mastoid process) have not been studied and identified.

The role of viral infections of acute otitis media has been studied by many scientists [4, 5, 20, 21, 26, 29, 30]. Some of

\* To cite this English version: H.Ye. Timen, M.I. Bezeha. Peculiarities of help management to patients with acute otitis media complicated by mastoiditis // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 40-45.



them consider the main cause of viral infections can be etiological factors that is proved by [4, 5, 27] immunofluorescent, immunoenzymatic, cytological and others methods [24, 26], which indicate the viruses of grippe, parainfluenza virus, and adenoid viruses. Other authors consider the viruses of releaser with consequent bacterial flora [7-9, 11, 12, 33]. Herpesvirus of the first and the second types in 40% of patients, adenoid viral infection in 24%, and disorders of air cells of Epstein-Barr virus in 56,7%, adenoid viruses infection in 40% [10, 13] were presented. Acute otitis media indicates inflammatory damage of mucous membrane in auditory tube and eardrum and also in mucous membrane of antrum and papillary process. Thus, in acute otitis media of viral etiology complicated by mastoiditis it is necessary to determine etiological causes [26, 28]. M. K. Drahnyeva concluded that bacterial factor is not leading in mastoiditis etiology and also considered AM as a surgical disease [8].

Operation management has not practically changed since Schwartz. Nowadays, in most cases after AM wound is left open. Conventional AM is a traumatic operation and its technique is not effective. Nowadays such methods of surgeries on papillary process as antrodrainage, bypass surgery, microsurgical surgeries are used. Conservative surgeries during treatment of acute inflammatory processes of the structures of middle ear are needed. It is necessary to provide the search for new effective etiological and pathological approaches.

The aim of the research is to increase the efficacy of patients' treatment who suffer from acute otitis media complicated by mastoiditis by conservative and surgical methods.

**Materials and methods of the research**

The examination was conducted in different medical institutions. 173 patients who suffered from acute otitis media complicated by mastoiditis were examined and treated (2009–2016).

Criteria for patients' examination were as follows:

1. Males and females who are ill with acute otitis media complicated by mastoiditis (18-65 years old).

Criteria for patients' exclusion:

1. People under the age of 18.
2. Pregnancy and breast feeding.
3. Patients with intracranial otogenic complications (meningitis, abscesses of brain and cerebellum).
4. The presence of concomitant diseases (diabetes mellitus, HIV-patients).
5. Patients with chronic purulent diseases of the middle ear.

All patients were divided into 2 groups. The first one contained (n=81) patients and comparison one included (n=92) patients. Correlation of patients of both groups is presented in table 1.

Table 1. Distribution of patients with acute otitis media complicated by mastoiditis.

Age	19-25				26-35				36-45				46-65			
Sex	m		f		m		f		m		f		m		f	
Number	Abscess	%	Abscess	%	Abscess	%	Abscess	%	Abscess	%	Abscess	%	Abscess	%	Abscess	%
I group.	7	4,05	13	7,51	10	5,78	11	6,36	9	5,20	12	6,94	11	6,36	8	4,62
II group	11	6,36	12	6,94	14	8,09	12	6,94	11	6,36	12	6,94	11	6,36	9	5,20
Total number	18	10,40	25	14,45	24	13,87	23	13,29	20	11,56	24	13,87	22	12,72	17	9,83

Groups were statistically similar. Antiviral therapy was administrated to patients of the first group. Besides, early and short-term (3-5 days) bypass of eardrum was conducted. Surgery was performed to a number of patients such as antromastoidotomy. Depending on the type of therapy patients were divided into subgroups:

1-a – control group (study group) – treatment was done without surgical intervention on the papillary process. Short-term bypass of the eardrum was by the patients of this group. Local and topical therapy of patients of the first group was used.

1-b – control group (study group) – surgical intervention was done: endoscopic tunnel antrotomy or modified antromastoidotomy.

2-a – group of comparison – patients took conservative treatment. Conventional paracentesis of the eardrum and auripuncture was topically – done.

2-b – group of comparison conventional antromastoidotomy was done to this group of patients.

Number of patients is presented in table 2.

Table 2. Patients' distribution based on groups of study

Group of patients:	Number of patients		Total number
	Abscess	%	
Main 1-a	47	27,17	81
Main 1-b	34	19,65	
Group of comparison 2-a	37	21,39	92
Group of comparison 2-b	55	31,79	
Total number	173	100	173

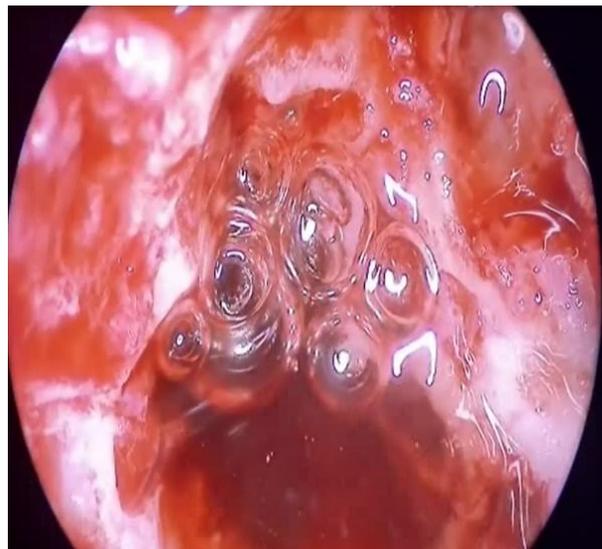
In patients of the subgroup 1-b surgical sanitation of cavities of the middle ear with the drainage of atticoantral passage by rubber drainage was used and after operation teflon tubing with single-step sealing of operative wound was also used.

Tunnel endoscopic antrotomy was conducted to all patients of the investigated 1-b group and the aim to find out the state of antrum and cells of papillary process in periantral zone. Destruction and necrosis, the presence of viscous purulent exudate, rate of surgery were registered. Antromastoidotomy was done by our own methods.

Endoscopic examination of antro-tympanic ostium was done during tunnel endoscopic antrotomy. It expanded to the limits when, during the pneumatic test of air, it began to pass freely through it (Figure 1a, b). Moreover, the injection of air was carried out in the direction of both from the eardrum to the antrum in order to ascertain the absence of the valve mechanism of the disruption of ventilation and drainage in one of the directions. This fragment of surgical intervention was performed by Siegle pneumatic funnel using special sealant obturators. Thanks to the use of endoscopes Ø4 mm with an angle of 0° and 30°, a detailed visualization of the antro-tympanic zone was conducted, which made it possible to more accurately restore its message, to avoid dangerous injury to important anatomical structures of the middle ear.



a



b

Picture 1. a) Use of Siegel Air Pump to determine the functioning of antro-tympanic ostium.  
b) Free air passage during functioning ostium.

Emergent surgical interventions in the first hours after the patients' visit with acute otitis media, complicated by mastoiditis, were performed only in patients with severe clinical course of the disease, with signs of a threat of development of intra- or extracranial complications.

The scheme of the standard examination of patients included audiometry and impedance measurement, computed tomography of the skull, including all structures of the temporal bone. Preference was given to cone-beam computerized tomography, in which the patient receives almost 10 times less radiation exposure (not more than 50  $\mu$ Sv). At the same time, in the course of repeated tomography, only the zone of interest is scanned - the mastoid process, and accordingly the radiation decreases, which allows conducting X-ray examinations during the treatment with minimal harm to the patient's health. The advantage of cone-beam computerized tomography is also the high quality of visualization of bone structures, since the thickness of CT sections is about 0.125 mm, which is sufficient for interpreting the state of the structures of the middle ear.

To objectify the degree of change in the cellular structure of the mastoid process, one proposed a pneumatization index (PI) - the ratio of pneumatized cells to anaplasmatization. The dynamics of the pneumatization index, which can be determined during a repeat computer tomography study, it was one of the main criteria by which one can define the effectiveness of conservative therapy. In those cases when the PI was negative or its positive dynamics was not observed, a decision was generally made about the need to change to active surgical tactics. Endoscopic tunnel antrotomy or modified antromastoidotomy were used for the patients of the group 1-b. Traditional antromastoidotomy was used for the patients of the second one.

When choosing an approach to comprehensive treatment of patients with acute otitis media complicated by mastoiditis, indications for conservative tactics of their management, as well as clinical, radiologic and temporal aspects of the need for transition to surgical intervention were developed. Such combinations of data as influence of the choice

of treatment management: clinical (local and general), radiologic, laboratory and complications were considered.

During surgical interventions on the structures of the middle ear, removed fragments of the mucosa of the antro-tympanic zone were sent for histological examination.

### Results and discussion

Analyzing the results of a histological examination of the mucous membrane of the mastoid process, partially removed with antro-mastoidotomy, we noted the presence of changes which define viral mucosal lesions.

Results of the research lead to the administration of antiviral drugs in comprehensive treatment of acute otitis media complicated mastoiditis. "Proteflazid" was used as effective antiviral drug. Solution of the drug can be used in both systemic and topical therapy during acute mastoiditis.

Conservative treatment was prescribed to all patients which included a standard regimen: antibacterial agents (a combination of 2-3 broad-spectrum antibacterial drugs), anti-inflammatory, dehydration, antihistamines and local (early paracentesis, antiseptic lavage of the eardrum, anemia of the nasal mucosa, etc.). In the presence of non-homogeneous darkening of the system of cells of the mastoid process on the CT images with the presence of even 1-2 intact cells in the preparation of serous contents during the paracentesis of the tympanic membrane, the therapy prescribed by us was carried out for 2-3 days, and then repeated cone-beam computerized tomography was performed. With the improvement of clinical and laboratory data, as well as positive radiological dynamics, which manifested itself in an increase in the number of air-bearing cells, and most importantly in the recovery of mastoid-tympanic messages, surgery was not performed, and conservative treatment continued until recovery.

Complications of AM (acute mastoiditis) were divided into two groups: complications within the middle ear system and complications out of their limits, and it has practical importance in the choice of treatment management. Complications within the middle ear included bullous myringitis, herpetic otitis, as well as paresis of the facial nerve. Complications that were out of the middle ear included intracranial complications (meningitis, menin-

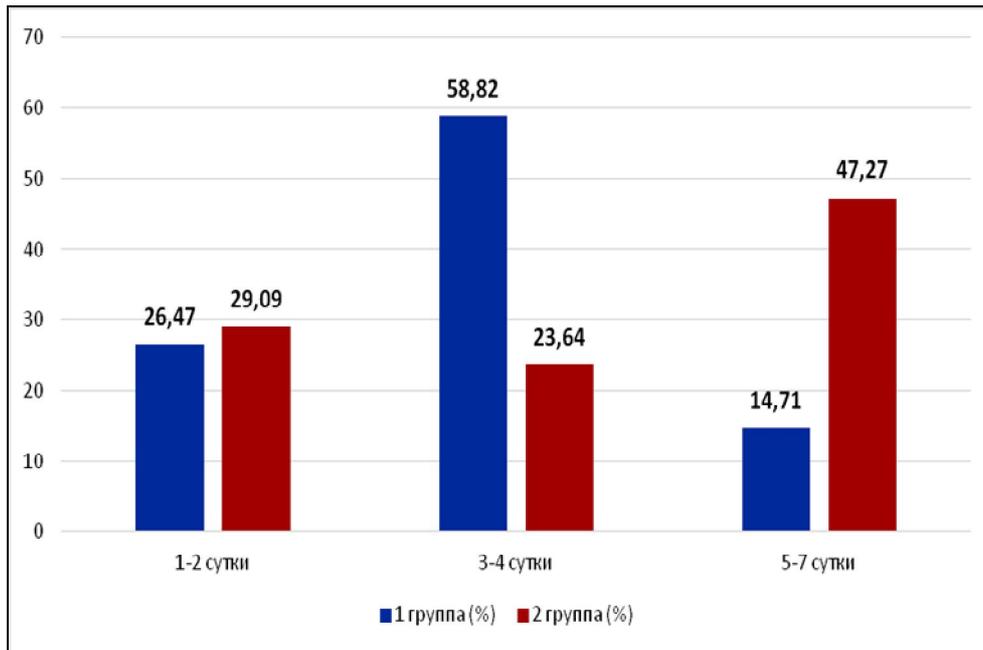
goencephalitis, sinustrombosis, brain abscesses), as well as subperiosteal abscess and zygomatic abscess.

It should be noted that there is the necessity for surgery on the 3<sup>rd</sup>-4<sup>th</sup> or 5<sup>th</sup>-7<sup>th</sup> day of the development of mastoiditis, and each patient had individual differences in both intensity and prevalence of the process. In this regard, it was decided to undertake surgical intervention only in the absence of a positive clinical effect, negative laboratory dynamics, and especially - with a decrease in the number or absence of air-bearing cells in the mastoid process with repeated computed tomography. These changes were interpreted by us as a blockade of the antro-atico-tympanic drainage system.

In all cases, with computed tomography of the temporal bone, in patients with acute mastoiditis different degrees of

expression of the tympanic cavity, antrum and cells of the mastoid process were found. To objectify the degree of disorders in the cavities of the middle ear, a pneumatization index (PI) the ratio of pneumatized cells to the pneumatized cells was proposed. Due to this index there is an opportunity to conclude positive or negative dynamics of the disease against the background of the treatment.

In those cases when restorations were not observed in patients in the first group of papillary process (the pneumatization index either remained at the same level or was negative), the clinical manifestations did not improve, or, conversely, became worse - a surgical operation was carried out with 2 variants: 1) tunnel endoscopic antrotomy; 2 - modified anthromastoidotomy with drainage.



Picture 2. Terms of surgeries in patients of the study group and group of comparison.

The terms of surgical interventions in patients of the compared groups differed significantly (Picture 2). In the dynamics of patients of the 1<sup>st</sup> study group, there is a tendency to decrease in the number of operations relative to the comparison group on the 5-7<sup>th</sup> day of treatment. This is due to a more effective restoration of attic-aural connection, and an early bypass of the tympanic cavity. Due to this, in the first, the study group, the number of postponed surgical interventions was significantly lower ( $P < 0.05$ ) as relative to patients of the comparison group. In total, conservative treatment resulted in the recovery of 26 patients under study and 11 in the comparison group, which is 52.1% and 28.6%, respectively.

One of the informative criteria for the effectiveness of the implemented methods of treatment for patients with acute otitis media complicated by mastoiditis is the study of auditory function according to the tone audiometry. The audiological examination was performed for all patients of the compared groups immediately before the treatment and after the completion of its stationary period - in most cases on the 8th day of examination. According to the data obtained (Table 3, 4), the air conduction indices in patients of subgroups 1a and 1b significantly ( $P < 0.05$ ) differ from subgroups 2a and 2b, which indicates dynamics of restoration of auditory function in patients of the studied group.

Table 3. Dynamics of indices of audiological examination of patients with acute otitis media complicated by mastoiditis and who conservative therapy.

Type of examination	Frequency of hz	Group 1 a (n = 34)		Group 2 a (n = 55)	
		Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Air capacity	500	33,8	3,4	31,9	5,1
	1000	32,5	3	31,3	7,6
	2000	31,3	4,1	31,9	8,6
	4000	33,1	5,4	31,3	6,4
Osseous capacity	500	10	1,4	7,5	3,9
	1000	11,3	3,1	10,6	2
	2000	11,9	2,5	12,5	3,4
	4000	10	3,8	9,4	6,8

Table 4.  
Dynamics of indices of audiological examination of patients with acute otitis media complicated by mastoiditis and patients who underwent surgical intervention.

Type of examination	Group	Group 1 b (n = 34)		Group 2 b (n = 55)	
	Frequency of hz	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Air capacity	500	31,8	5,4	31,9	9,8
	1000	29,8	5	33,3	8,6
	2000	30,4	4,1	31,9	8,6
	4000	32,6	5,4	31,3	6,4
Osseous capacity	500	11,3	2,4	7,5	3,9
	1000	12,5	3,1	10,6	2
	2000	10,7	2,5	11,5	3,4
	4000	11,3	5,8	9,4	3,8

18 patients were examined on the 3rd month after the operation. There were no complaints of hearing impairment in patients. Exacerbations of the disease were not detected. There were no pathological changes from the eardrum and the behind-the-ear section. The auditory function was in accordance with the age norm. During the examination, one year after the treatment, the positive results were preserved, and in the future, when patients of the first group were examined for control in 2-4 years (17 patients), there were no complaints of hearing impairment and loss. There were no complications in patients of the examined group.

Thus, comparing the results of clinical observations in the patients of the two groups, one can state that proposed comprehensive treatment of acute otitis media complicated by mastoiditis, including the developed operations (early short-term shunting, tunnel anotomy, modified anthromastoidotomy, and the use of antiviral immunotropic drugs, optimize the treatment of patients with one of the most common and severe diseases in otolaryngology.

### Conclusions

The criteria for the transition from conservative treatment to the surgical one in patients with acute otitis media complicated by mastoiditis were determined.

Surgery of early and short-term bypass of eardrum and tunnel endoscopic antrotomy with drainage of antrotympanic connection was developed and proposed for initial stage of surgical treatment of patients with acute otitis media complicated by mastoiditis.

Comparison of results of the treatment of the main study group with patients of the comparison one determined significantly high level of hearing restoration in both conservative treatment (3,98 dB. и 6,93 dB correspondingly) and in operated patients (4,97dB. and 8,35 dB correspondingly) ( $p < 0,05$ ).

### References

1. Avdeeva S.N. The incidence of upper respiratory tract diseases among the urban population at the present stage. Rossijskaja otorinolaringologija. 2006; (3): 33-37. Russian.
2. Bezeha M.I., Rymar V.V. New approaches to surgical treatment of acute mastoiditis. Zhurn. vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 2007; (3): 26-27. Russian.
3. Bezeha M.I., Rymar V.V. Acute mastoiditis, especially conservative and surgical tactics depending on the etiological factor. Zhurn. vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 2008; (3): Russian.
4. Bikbaeva A.I., Shulenov V. M. Some electrical methods of research at otogenic intracranial complications. Vestnik otorinolaringologii. 1978; (5): 70-74. Russian.
5. Harib M. Y. To the question of the etiology, pathogenesis, clinical manifestations and treatment of recurrent suppurative otitis media in young children: Avtoref. Cand. Med. Sciences. M., 1972. Russian.
6. Hariuk H.I., Merkulov A. Y., Hariuk O.H. Computed tomography in the diagnosis of oral diseases of the nose and paranasal sinuses. Kharkiv, 2013. 104 p. Russian.
7. Hurevich P.S., Vertlib Yu.M., Popov N. P. On the protection of the middle ear in acute respiratory viral infection. Journal. Ear, Nose and Throat Diseases. 1978; (2): 37-39. Russian.
8. Drahnev M.K., Stovbun F.I., Shevryhin B.V. The role of middle ear infections in pre-treated with antibiotics. Vestnik otorinolaringologii. 1984;(4):31-34. Russian.
9. Drahnev M.K. Antrum, mastoiditis and chronic otitis media. Kishinev Shtiintsa, 1992. - P. 32-33, 36-37, 46-48. Russian.
10. Zabolotnyi D.I. et al. Meaning of virological research methods in otolaryngology. Zhurn. vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 2008;(5): 67. Russian.
11. Kozlov M.J. The organization of. ENT - the sick disease of the ear. Proc. rep. scientific-practical. Conf. LPMI. - L., 1986. P. 14-16. Russian.
12. Komashko N.A. Treatment of patients with chronic catarrhal sinusitis with Epstein-Barr virus infection: Author. [dissertation]. K., 2009. Russian.
13. Kozlov M. Yu. Acute otitis in children and their complications. L.: Medicine. Leningrad. Dep-tion, 1986. - 232 p. Russian.
14. Laiko A.A., Zabolotnyi D.I., Horishnyi Sh.Sh. Secretory otitis of middle ear. Navch. method. posib. For doctors and interns. pisyadiplomn. osviti. - Singapore: Logos, 2006. 120 p. Ukrainian.
15. Luchikhin L.A. Modern views on the diagnosis and treatment of mastoiditis. Vestnik otorinolaringologii. 1999;(6):9-13. Russian.
16. Mishenkin N.V. Labyrinthitis. Guide Otolaryngology. Ed. IB Soldatov. M.: Medicine, 1997. 608 p. Russian.
17. Moiseyenko R.O. Protocol of children treatment, ailing at GOSTR middle otitis. Med. indeks. hirurgiya. 2006;(1):25-26. Ukrainian.
18. Bahriy M.M., Dibrova V.A., Popadinets O.G., Hrischuk M.I. Methods of morfologic investigation: monograph; of Ed. Bagriya M.M., Dibrova V.A. - Vinnitsya: Nova Book, 2016. 328 p. Ukrainian.
19. Petrov I. F., Chaukina V.A., Rymsha M. A. Acute otitis media neperforativny: the value of laboratory diagnosis in determining the tactics of local treatment. Rossijskaja otorinolaringologija. 2007; (6): 115-119. Russian
20. Petrova L.N., Makarevich I.G. Milkint K.K., Rumeli N.B. Diagnosis of acute otitis viral non perforativ using of immuno fluorescence method. Zhurn. vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 1986;(4):56-59. Russian.
21. Serhienko P.V., Pushkareva N.S., Elchaninova I.I. Some aspects of the etiology of the pathogen, clinics and treatment of lingering forms of acute otitis media. Zhurn. vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob.1975;(1):40-45. Russian.
22. Slavinskiy A.A., Semenov F.I. Controversial aspects of otitis media with effusion // Vestnik otorinolaringologii. 2006;(2):62-65. Russian.
23. Trofimov A.E. Pharmaco epidemiology of acute and chronic suppurative otitis media in urban and rural residents: [dissertation]. Smolensk, 2006. 20 p. Russian.

24. Fall N.I., Sushko Y.A., Rymar V. V. Diagnosis and treatment of purulent anaerobic. Zhurn. vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 1985;(5):10-14. Russian.
25. Eyad Mahmoud Izzat Tannineh. Clinical and patomorphologic justification for surgical treatment of patients with chronic purulent epi, epimezotimpanitom: [dissertation]. 2004. 24 p. Russian.
26. Yanahisava Ye. S. Kmucha Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery. Ed. J. Lee (USA). - Kiev: Health, 1995. Section 6. P. 78-82. Russian.
27. Berenyi J., Jori J. Az otitis media ehsudativa koris merese es kerelese. Ful. orr. gegegyogy. 1983;V.29;(4):229-235.
28. Brook I., Schwartz R. Anaerobic bacteria in acute otitis media. Actaotolaryngol. 1981;71(1-2):111-114. English.
29. Hayasky M., Sato H. Eustachian tube function and otitis media with effusion. Review of literature. Pract. Otol. 1987; 80(5):819-824. English.
30. Karma P., Palva A., Kokko E. Immunological Defects in children with Otitis Media. Actaotolaryng. (Stockh.). 1976;82(3-4):193-195. English.
31. Lim D.J., DeMaria T.F. Paneldiscussion: Pathogenesis of otitis media. Bacteriology and immunology. Laryngoscope. 1982;98(1, 2):2-9. English.
32. Dai C., Wood M.W., Gan R.Z. Tympanometry and laser Doppler interferometry measurements of otitis media with effusion model in human temporal bones. Otol. Neurotol. 2007;28(4):551-558. English.
33. Migirov L., Yakirevitch A., Kronenberg J. Mastoid subperiosteal abscess: a review of 51 cases. Int. J. Pediat. Otorhinolaryngol. 2005;69(11):1529-1533. English.
34. Tokumaru A., Eguchi T., Watanabe K. Characteristics of migrating cells in effusion of the middle ear in patients with «eosinophilic otitis media». 2007;110(11):713-719. English.

*Матеріал надійшов до редакції 08.12.2017*

## КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК

© Лавренко А.В.

УДК:616.24-002-06:616.981.41:579.842.16

### КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК ПОЗАЛІКАРНЯНОЇ ПНЕВМОНІЇ УСКЛАДНЕНОЇ РОЗВИТКОМ СЕПСИСУ, ВИКЛИКАНОГО *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*\*

Лавренко А.В.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

*Актуальность проблемы сепсиса в настоящее время определяется несколькими причинами: значительной частотой заболевания, высокой летальностью и, следовательно, значительным экономическим ущербом, причиняемым этим заболеванием в экономически развитых странах. Систематизирована и изложена клиническая картина, подробно рассмотрены вопросы лабораторной диагностики, определены принципы лечения. Проанализированы патологические изменения, возникающие при сепсисе со стороны различных органов и систем. Показан диагностический алгоритм, приемлемый как при наличии, так и при отсутствии лабораторной верификации заболевания. Стартовая антибактериальная терапия рекомендована как эмпирическая, зависящая от локализации первичного очага и системных проявлений инфекции. Таким образом, рассматривая клинический случай сепсиса, надо подчеркнуть, что очень важно собирать подробный анамнез (особенно, если это бронхо - легочная система), учитывать где и кем работает больной (особенно если это медицинский работник, и другие лица, которые работают в организованных коллективах), необходимо предположить в качестве возбудителя внутрибольничную инфекцию.*

**Ключевые слова:** сепсис, микроорганизмы, антибиотики, внебольничная пневмония.

Сепсис є провідною причиною смерті та інвалідності в усьому світі, особливо якщо вона не розпізнається і не своєчасно лікується [1]. Ініціативи, спрямовані на раннє виявлення і управління сепсисом в стаціонарі, привели до зниження смертності від сепсису і збільшення числа пацієнтів, що вижили [2].

Раннє визначення патогенного збудника у хворого на сепсис є вкрай важливим та відповідальним завданням клініциста з огляду на ефективність та своєчасність призначення адекватної антибактеріальної терапії (АБТ). Зрозуміло, що в більшості випадків лікар не має можливості отримати данні щодо збудника інфекції в перші години і навіть дні від початку захворювання, отже, АБТ слід призначати емпірично. Слід зауважити, що емпірична АБТ не означає призначення антибактеріального препарату «в сліпу», при виборі антибіотика лікар повинен брати до уваги ймовірність потенційного збудника або збудників залежно від умов виникнення захворювання (госпітальна або позалікарняна інфекція), локалізації первинного вогнища, тривалості захворювання, попереднього прийому антибактеріальних препаратів, супутньої патології тощо.

Від правильного вибору та своєчасного застосування антибактеріального препарату значною мірою залежить результат лікування пацієнта з сепсисом.

Було показано, що затримка з призначенням адекватного антибактеріального препарату пацієнтам з сепсисом та септичним шоком (СШ) на 1 годину призводить до зростання ризику смерті хворого на 7,6% [3]. Більшість дослідників вказують на вирішальне значення вибору адекватного антибактеріального препарату стосовно виживання хворих з сепсисом та СШ.

При «позалікарняному» сепсисі збудниками з високою ймовірністю будуть штами умовно патогенних мікроорганізмів, в багатьох випадках чутливих до більшості антибактеріальних препаратів (захищені пеніциліни, фторхінолони, захищені цефалоспорино тощо). За умови виникнення «нозокоміального» сепсису в ролі збудників найчастіше виступають штами полірезистентних госпітальних мікроорганізмів; в такому випадку при виборі антибактеріального препарату слід орієнтуватись на мікробний пейзаж виділення та результати попередніх бактеріологічних досліджень цього виділення з урахуванням первинної локалізації запального вогнища. Часто клініцисту доводиться призначати комбінацію антибактеріальних препаратів з метою «перекриття» всіх ймовірних збудників, з наступною корекцією АБТ відповідно до результатів антибіотикограми.

Нижче нами представлений клінічний випадок, який демонструє складність замаскований під пнев-

\* Цитування при атестації кадрів: Лавренко А.В. Клінічний випадок позалікарняної пневмонії ускладненої розвитком сепсису, викликаного *Klebsiella pneumoniae* // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 46–50.

монію діагностичного процесу та ускладнення вибору раціональної антибіотикотерапії у хворого із септичним станом.

Хворий чоловік, 59 років, за спеціальністю медичний працівник, доставлений БШД 08.09.2017р. в приймальне відділення міської лікарні зі скаргами на підвищення температури тіла до 39,5<sup>0</sup>С, пітливість, задишку при незначному фізичному навантаженні, нудоту, виражену загальну слабкість.

Із анамнезу хвороби відомо, що з літа періодично відмічав субфебрилітет після того, що працював в літньому таборі з підлітками. Відмічає, що близько 2 тижнів з'явилась постійна субфебрильна температура тіла 37,3<sup>0</sup>С та наростали вищевказані скарги. Приймав парацетамол, німесіл. Із анамнезу життя відомо, що переніс в 2014 р. ендопротезування лівого кульшового суглобу.

Під час огляду: загальний стан хворого тяжкий. Хворий в свідомості, адекватний, доступний продуктивному контакту. Шкірні покриви чисті, блідо-рожевого кольору. Периферичні лімфовузли не збільшені. Набряків нема.

ЧДР-20 за хв., SaO<sub>2</sub> – 88%. При перкусії притуплення легеневого звуку в нижніх відділах з обох боків. При аускультатії дихання жорстке, в нижніх відділах ослаблене, з обох боків сухі хрипи.

Пульс 89 за хв., АТ-140/90 мм.рт.ст. Межі відносної тупості серця збільшені вліво на 2,0 см. Тони серця ритмічні, ослаблені, акцент ІІ тону на аорті.

Язик обкладений білим нальотом. Живіт м'який, безболісний. Печінка та селезінка не збільшені. Симптом поколючування негативний з обох боків.

Діагноз при госпіталізації – негоспітальна двобічна полісегментарна пневмонія, клінічна група ІІІ, ДН ІІ. Враховуючи важкість стану, хворий госпіталізований у відділення реанімації інтенсивної терапії (ВРІТ).

При обстеженні 08.09.17: ЗАК Нв- 146 г/л, ер.-4,8 x 10<sup>12</sup>/л, к.п. -0,91, тр. - 150 x 10<sup>9</sup>/л, L- 17,0 x 10<sup>9</sup>/л, ШОЕ –12 мм/г, л.ф: п.-8 %, с. -74%, е.- 1%, л. -14%, м. -3% ; аналіз крові на цукор – 4,9 ммоль/л; біохімічний аналіз крові білірубін – 16,2 ммоль/л, пр. – 2,4 ммоль/л, непр. – 13,8 ммоль/л, креатинін – 108,3 мкмоль/л., сечовина – 6,2 мкмоль/л., зап.азот – 29 г/л, заг. білок – 59 г/л, концентрація калія в сировотці крові – 3,93 ммоль/л, хлора - 103,1 ммоль/л, кальція – 1,28 ммоль/л. ЗАС колір - жовтий, реакція - нейтральна, ПВ – 1018, прозорість – прозора, жовчні пігменти - негативні, білок – сліди, цукор - немає, мікрокопія: слиз – в нормі, епітелій - рідко, лейкоцити – 2-4 в п/з, еритроцити – 20-25 в п/з, циліндри – відсутні; ЕКГ ЧСС – 90 за 1 хв., ритм синусовий. ЕОС не відхилена. Порушення процесів реполяризації задньо-бокової ділянки лівого шлуночка; Рентген ОГК: в нижній долі справа локальне посилення, згущення легеневого малюнку. Корені щільні, структурні серце збільшено вліво.

Призначено лікування: левофлоксацин 1000 мг - 100,0 мл в/в, цефепім 1000 мг в/в, азітроміцин 0,5 per os, дексаметазон 8 мг - 2 мл в/в, анальгін 50% - 4,0 в/в, ацетилсаліцилат лізіна 1,0 г в/м, амброксол гідрохлорид 2,0 мл в/в, реосорбілакт 200,0 мл в/в, глюкоза 10% -400,0 мл, інсулін 10 Од, натрія хлорид 10% - 30,0 мл, калія хлорид 7,5% -30,0 мл, еуфілін 2,4% - 10,0 мл, строфантин 0,25 мг -1,0 мл в/в, гепарин 2,5 тис в/в. В реанімаційному відділенні 09.09.17 скарги на підвищення температури тіла до 39,0<sup>0</sup>С, пітливість, задишку при незначному фізичному навантаженні,

нудоту, виражену загальну слабкість, стан хворого стабільно тяжкий. Гемодинаміка стабільна. Лікування не змінено.

10.09.17. до попередніх скарг хворого приєднуються болі в епігастрії, правому підребер'ї, нудота та блювання жовчу. Під час огляду гострої хірургічної патології не виявлено.

Черговий терапевт діагностував гострий панкреатит. До лікування додали пантопразол 40 мг в/в, ношпу 2,0 мл в/в, метоклопрамід гідрохлорид 2,0 мл в/м, магнікор 75мг, ліпразид 10 мг per os (враховуючи супутню ГХ в анамнезі). О 19:00 у хворого виникла реакція на введення цефепіму, яка проявилась ознобом, підвищенням температури тіла до 39,5<sup>0</sup>С, головним болем. Дану реакцію оцінили, як ендотоксемію (реакція Яриша-Герксгеймера), яка виникає через кілька годин після початку лікування специфічними антибактеріальними засобами, пов'язана зі швидким вивільненням антигенів, ендотоксинів при масовій загибелі бактерій-збудників захворювання, що призводить до неконтрольованої імунної відповіді. Через добу стан хворого стабілізувався. Цефепім хворому відмінили.

11.09.17. 09:30 хворий переведений до пульмонологічного відділення. При огляді пульмонологом хворий починає скаржитись на сильні болі в поперековому відділі хребта, які раніше не виникали, підвищення температури тіла до 39<sup>0</sup>С. При об'єктивному обстеженні відмічається болючість в пілородуоденальній зоні, збільшення печінки на 4 см нижче реберної дуги 13x11x8 см та селезінки на 3 см 14x9 см. Оглянутий гастроентерологом та урологом: Виразкова хвороба 12 палої кишки? Хронічний гепатит в стадії загострення. Хронічний панкреатит в стадії загострення. Сольовий діатез. Мікрогематурія. Призначені додаткові методи дослідження фіброгастроуденоскопія (ФГДС), простатоспецифічний антиген.

При обстеженні на ФГОГК візуалізується локальне посилення легеневого малюнку в нижніх долях. Корені уплотнені, розширені. Синуси свободні. Серце розширено вліво.

Призначено лікування в пульмонологічному відділенні: цефтазидим 1,0 г в/в 1 раз на добу та 1,0 г в/м 1 раз на добу, амікацин 0,5 г в/м 2 рази на добу, орнідазол 500 мг - 100,0 мл в/в 1 раз на добу, преднізолон 30 мг, анальгін 50% - 2,0 мл в/м 1 раз на добу, ердостейн 1 таб. 2 рази на добу, ацетил цистейн 600 мг 1 таб. 1 раз на добу, беродуал 2 дози 3 рази на добу, вітамін С 5% 4,0 мл в/в 1 раз на добу, натрія хлорид 0,9% - 800,0 мл, панангін 10,0 мл, метоклопрамід гідрохлорид 2,0 мл в/м 2 рази на добу, реополіглюкін 200,0 мл в/в 1 раз на добу, фамотідін 40 мг в/в 1 раз на добу, аргінін глутамат 40% -10,0 мл в/в 1 раз на добу, платифілін 0,2% - 1,0 п/ш 1 раз на добу, пантопразол 40 мг в/в 1 раз на добу.

12.09.17 в 09:30 стан хворого погіршився, знову з'явилися нудота та блювання, посилились болі у епігастрії, з'явилися червоні папули в ділянці голови та нижніх кінцівок. Проведено консилиум, діагноз: гострий панкреатит. Панкреонекроз? Виразкова хвороба 12 палої кишки у стадії загострення. Інтоксикаційний синдром. ДВС синдром. Негоспітальна правобічна нижньодольова пневмонія ДНо. Міокардіодистрофія. Гепато-лієнальний синдром. Варикозне розширення вен нижніх кінцівок.

Оглянутий хірургом - гострої хірургічної патології не виявлено.

Приблизно о 13:00 хворого почали турбувати болі в м'язах та суглобах, хворий оглянутий невропатологом: при оцінюванні неврологічного статусу ригідність м'язів потилиці відсутня, сила, тонус м'язів збережені. Рекомендовано комп'ютерну томографію головного мозку. Інфекціоністом призначено аналіз крові на лептоспіроз, бруцельоз, псевдотуберкульоз, кишковий ієрсиніоз, кров на стерильність тричі, для уточнення діагнозу. У 14:00 стан хворого погіршився, хворий переведений у ВРІТ.

При обстеженні: аналіз крові на цукор 11,0 ммоль/л; діастаза сечі – 64 од;  $\alpha$ -амілаза крові – 36 од/л; група крові та резус-фактор 0(I)Rh- негативна; ЕКГ: ЧСС – 165 за 1 хв., трепотіння передсердь з регулярним проведенням 2:1. Шлуночкова екстрасистолія. ЕОС горизонтальна. Порушення процесів реполяризації задньо-бокової ділянки лівого шлуночка; УЗД органів черевної порожнини (ОЧП): УЗ-ознаки дифузних змін у печінці, гепатоспленомегалії, хронічного холецистита з явищами застою, хронічного панкреатиту. Нефропатія, сечокисллий діатез. Аневризма супраренального відділу аорти. Метеоризм кишківника; КТ ОЧП заключення: КТ ознаки гепатоспленомегалії, гепатозу; застійного жовчного міхура, хронічного холециститу, хронічного панкреатиту; сольового діатезу; збільшення медіастинальних та поздовшніх зліва лімфовузлів; атеросклероз аорти і поздовшніх артерій; деформуючого спондилозу, спондилоартрозу ймовірно перенесеного спондилодисциту в L5-S1; КТ головного мозку: КТ ознаки церебрального атеросклерозу, дисциркуляторної енцефалопатії з явищами помірної церебральної атрофії, кісти правої пазухи носа.

Продовжено лікування дезінтоксикаційними препаратами, аміказон 0,5 г в/м 2 рази на добу, натрія хлорид 0,9% - 400,0 мл, аргінін глутамат 40% -10,0 мл в/в 1 раз на добу, пантопразол 40 мг в/в 1 раз на добу. Призначили до лікування меропенем 1,0 г в/в 1 раз на добу, еноксапарин натрію 0,4 г/ш 1 раз на добу.

13.09.17 В об'єктивному статусі хворого почала наростати неврологічна симптоматика, посилились болі в м'язах, суглобах, нижніх кінцівках. Оглянутий повторно невропатологом: при огляді з'явилась ригідність шийних м'язів (++) , симптом Керніга (++) з обох боків. Повторно оглянутий інфекціоністом лікарні та обласним інфекціоністом. Призначено діагностичну люмбальну пункцію, аналіз крові та ліквора на вірус герпесу 1 і 2 типів, цитомегаловірус, вірус Епштейна – Барра. Консультований хірургом в зв'язку з варикозною хворобою нижніх кінцівок: гострої хірургічної патології не виявлено. Варикозне розширення вен нижніх кінцівок без прояву тромбозу. Консультований оториноларингологом: викривлення носової перетинки з порушенням носового дихання. Проведено люмбальну пункцію, взято 1,0 мл білуватої мутної речовини.

При обстеженні: Результат серологічного дослідження крові: антитіло до збудників лептоспірозу, бруцельозу, псевдотуберкульозу, кишкового ієрсиніозу – не виявлено. В аналізі крові малярійний плазмодій не виявлений. Дослідження калу і сечі на сальмонельоз - негативний. ПЛР. Вірус простого герпесу 1 і 2 типів (кров, якісне визначення) – не виявлений. Вірус простого герпесу 1 і 2 типів (ліквор, якісне визначення) – не виявлений. Вірус герпесу 6 типу (кров, кількісне визначення) не виявлений. Цитомегаловірус (кров, якісне визначення): цитомегаловірус не виявлений. Цитомегаловірус (ліквор, кількісне визначення) – не виявлений. Вірус Епштейна – Барр (кров, кількісне

визначення): вірус Епштейна – Барр (Lg) – 3,59, вірус Епштейна – Барр (копії) –  $3,92 \times 10^3$ . Вірус Епштейна – Барр (ліквор, кількісне визначення) – не виявлений. Аналіз крові на стерильність - аеробна бактеріальна флора не виявлена. УЗД магістральних судин нижніх кінцівок: варикозне розширення підшкірних вен обох нижніх кінцівок, ПТФС підшкірних вен лівої гомілки, хронічна венозна недостатність. ФГДС: еритематозна гастропатія. Ехокардіологічне дослідження: УЗ- ознаки зниження скорочувальної здатності міокарду, збільшення лівого шлуночку, помірного фіброзу МК та АК, додаткова хорда у лівому шлуночку (ФВ – 49%). Проведеним консиліумом був виставлений попередньо діагноз: Сепсис. Негоспітальна двобічна полісегментарна пневмонія, ДН 0-I. Вторинний бактеріальний менінгіт. Гепато-лієнальний синдром. Аневризма черевного відділу аорти. Варикозно розширені вени обох нижніх кінцівок. ПТФС вен лівої гомілки. Хронічної венозної недостатності.

Хворий продовжує приймати дезінтоксикаційну терапію, до лікування рекомендовано додати левоміцетин сукцинат 1,0 г 3 рази на добу в/в, метронідазол 500 мг - 100,0 мл 1 раз на добу в/в, флюконазол 200 мг 1 раз на добу в/в.

14.09.17. Стан хворого тяжкий. Гемодинаміка стабільна. Хворому повторно проведено люмбальну пункцію. Оглянутий оториноларингологом: враховуючи КТ від 12.09.17 утворення в правій верхньочелюстній пазусі, рекомендована діагностична пункція. Вміст пазухи прозора рідина 1,5 мл, патологічних виділень немає. Після пункції в пазуху носа введено розчин діоксидину 1% - 2,0 мл. Консультований невропатологом: ригідність м'язів потилиці збільшується (+++), симптом Керніга (+++) з двох сторін, з'являється симптом Брудзинського верхній та нижній.

Консультований травматологом для виключення джерела інфекції в суглобі. Діагноз: стан після ендопротезування лівого кульшового суглобу, патологічних змін не виявлено.

При обстеженні ЗАК: Нь- 127 г/л, ер.-4,0 x  $10^{12}$ /л, тр. -220 x  $10^9$ /л, к.п. – 0,95, L- 34,1 x  $10^9$ /л, ШОЕ –38 мм/г, л.ф. п.-19 %, с. -70%, л. -8%, м. -2%, токсичні зернисті нейтрофіли, Нт – 40%; ЕКГ: ЧСС – 105 за 1хв., відновився синусовий ритм. ЕОС горизонтальна. Порушення процесів реполяризації задньо-бокової ділянки лівого шлуночка; Аналіз ліквора із забарвленням за Ціль – Нільсон: КСП не виявлені. Аналіз ліквора клінічний: 1,0 мл білуватої мутної речовини, білок – 1,47 г/л, цитоз – 950 в 1 мм<sup>3</sup> (переважно нейтрофіли), після центрифугування понадосадкова рідина – прозора, без кольору; осад – білого кольору; мікроскопічний осад – лейкоцити на 1/2 в п/з, еритроцитів – 4-6 в п/з, ендотелій – зрідка, реакція НА – позитивна (+++), глюкоза – 6,9 ммоль/л. Онкологічна панель (онкологічні онкомаркери) простат-специфічний антиген загальний TPSA – 2,86 нг/мл (норма до 4,0 нг/мл). Аналіз крові на антитіла IgG та IgM: *Borrelia burgdorferi* антитіла IgG – 0,29 (негативний), *Borrelia burgdorferi* антитіла IgM – 0,12 (негативний). Аналіз виділень із правої пазухи носа на мікрофлору та чутливість до антибіотиків – виділено *Acinetobacter* 2,5 x  $10^4$  чутливий лише до піперацеліну/тазобактаму, до інших антибіотиків не чутливий. Аналіз крові на стерильність - аеробна бактеріальна флора не виявлена. Лікування хворого не змінено.

15.09.17 Стан хворого тяжкий. Рівень свідомості глибокий сопор. Зберігається підвищена температура



тіла до 38,5°C, папульозний висип на шкірі тулуба, нижніх кінцівок, позитивні симптоми Керніга, Брудзинського. Повторно оглянутий обласним інфекціоністом після результатів люмбальної пункції, діагноз: сепсис, з ураженням легень (двобічна полісегментарна пневмонія ДН II), вторинний гнійний менингоенцефаліт. Консилиумом встановлено діагноз: Сепсис. Негоспітальна двобічна полісегментарна пневмонія ДН I. Вторинний бактеріальний менингіт. Гепато-ліснальний синдром. СПОН. Аневризма черевного відділу аорти. Варикозно розширені вени обох нижніх кінцівок. ПТФС вен лівої гомілки. Хронічної венозної недостатності. Стан після ендопротезування лівого кульшового суглобу. Рекомендовано повторити люмбальну пункцію та консультацію дерматолога. Діагноз дерматолога: токсико-алергічний дерматит.

При обстеженні 15.09.17 ЗАК: Нв- 131г/л, ер.-  $4,0 \times 10^{12}$ /л, тр. -200 х  $10^9$ /л, к.п. -0,98, лейкоцити-31,7х $10^9$ /л, ШОЕ -47 мм/г, л.ф: п.-8 %, с. -83%, л. -6%, м. -2%, токсична зернистість нейтрофілів, гіперсегментовані нейтрофіли, Нt – 39%; цукор крові – 6,6 ммоль/л., ЗАС: колір – с/ж, реакція – кисла, ПВ - 1023, прозорість - мутна, жовчні пігменти - негативні, білок – 0,183 г/л, цукор - немає, мікроскопія: слиз - підвищений, епітелій - рідко, лейкоцити – 10-12 в п/з, еритроцити -6-8 в п/з, циліндри -0-2 в п/з; Бактеріоскопія матеріала із зіву – м/ф – мізерна кокова, грам- негативна. Аналіз ліквора за окрасом по Граму: м/ф – мізерна кокова, грам- негативна. ЕКГ: ЧСС – 171 за 1 хв., трепотіння передсердь з регулярним проведенням 2:1. Аналіз крові на стерильність аеробна бактеріальна флора не виявлена. Шлуночкова – екстрасистолія. ЕОС горизонтальна. Дифузне порушення процесів реполяризації задньо-бокової ділянки лівого шлуночка; УЗД органів черевної порожнини (ОЧП): УЗ-ознаки дифузних змін у печінці, гепато-спленомегалії, хронічного холецисто – панкреатиту. Нефропатія, сечокислий діатез. Двосторонній гідроторакс. Аневризма черевного відділу аорти. Метеоризм кишківника;

До лікування рекомендовано додати ванкоміцин гідрохлорид 1,0 г 2 рази на добу в/в, свіжезаморожену плазму 300,0 мл 1 раз на добу в/в, альбумін 100,0 мл, лінекс (краплі) 2 мл 3 рази на добу, натрія хлорид 0,9% - 200,0 мл, ліолів 1 флакон (пляшка містить лецитин-стандарт 320 мг; антраль – 4,2 мг) 1 раз на добу в/в.

16.09.17 Стан хворого тяжкий. Рівень свідомості глибокий сопор. Продуктивному контакту недоступний. На ЕКГ – тріпотіння передсердь ЧСС-150-160 за хвилину. Консультований кардіологом: Сепсис. Вторинний інфекційний міокардит, перикардит. Пароксизмальна форма тріпотіння передсердь (12.09.-14.09.17, з 15.09.17) 2:1 СН II А зі зниженою систолічною функцією лівого шлуночку. Аневризма супраренального відділу аорти (УЗД від 12.09.17). До лікування додати глюкозу 5%-200,0 мл, кордарон 300мг в/в.

17.09.17 Стан хворого тяжкий. В свідомості, доступний контакту. Гемодинаміка стабільна. Оглянутий невропатологом: ригідність потиличних м'язів (++) , симптом Керніга негативний. Хворому в/м введено антистафілококовий імуноглобулін 200 МО. Лікування не змінено.

18.09.17 Стан хворого тяжкий. Хворий в свідомості, доступний контакту. У хворого з'явилися набряки верхніх та нижніх кінцівок, зменшилась ригідність потиличних м'язів (+,-). Проведено консилиум: Сепсис. Негоспітальна двобічна полісегментарна пневмонія

ДН I. Вторинний бактеріальний менингіт. Гепато - ліснальний синдром. СПОН. Аневризма черевного відділу аорти. Вторинний інфекційний міокардит, перикардит. Пароксизмальна форма тріпотіння передсердь (12.09.-14.09.17, з 15.09.17) 2:1 СНIIA зі зниженою систолічною функцією лівого шлуночку. Аневризма супраренального відділу аорти. (УЗД 12.09.17). Варикозно розширені вени обох нижніх кінцівок. ПТФС вен лівої гомілки. Хронічної венозної недостатності. Стан після ендопротезування лівого кульшового суглобу. Викривлення носової перетинки з порушенням носового дихання. Кісти правої верхньочелюстної пазухи. Діагностична пункція правої верхньочелюстної пазухи (14.09.17). Токсико-алергічний дерматит.

При обстеженні: Ехокардіологічне дослідження заключення: зниження скорочувальної здатності міокарду, збільшення лівих відділів серця, фіброз стулок МК та АК, гіпокінезу МЖП, додаткова хорда у лівому шлуночку, гідроторакс зліва, (ФВ – 47%); на рентенограмі ОГК в горизонтальному положенні нестандартній проекції з динамічною періодичністю, в порівнянні від 08.09.17, динаміка негативна. В проекції обох легневих полів від рівня II міжреб'я до низу справа зниження пневматизації легеневої тканини. Корені не диференційовані. Серце збільшене в поперечнику. Посів з носу та мікрофлору на чутливість до антибіотиків: патогенна бактеріальна флора не виявлена; коагулограма: протромбін – 61,0%, фібриноген – 2,78 г/л.

Хворому в/м введено антистафілококовий імуноглобулін 200 МО. Лікування не змінено.

19.09.17 Стан хворого тяжкий. У хворого почала наростати дихальна та серцева -судинна недостатність. Гемодинаміка нестабільна.

При обстеженні: ЗАК Нв- 120 г/л, ер.-3,8 х  $10^{12}$ /л, тр. -360 х  $10^9$ /л, к.п. -0,94, L- 21,3 х  $10^9$ /л, ШОЕ – 40 мм/г, л.ф.: п.- 5%, с. -85%, л. -7%, м. -8%, Нt – 37%; аналіз крові на цукор - 11,2 ммоль/л; біохімічний аналіз крові: білірубін – 24,0 ммоль/л., пр. – 4,0 ммоль/л., непр. – 20,0 ммоль/л., АТЛ – 22 од/л, АСТ - 26 од/л, креатинін – 70 мкмоль/л., сечовина – 8,7 мкмоль/л., заг.білок – 42 г/л, калій – 3,83 ммоль/л., хлор- 108,7 ммоль/л., кальцій – 1,18 ммоль/л. Аналіз сечі на мікрофлору на чутливість до антибіотиків - аеробна бактеріальна флора не виявлена. Аналіз ліквора на бактеріоскопію –м/ф мізерна кокова грам (негативна). Аналіз ліквора клінічний: 0,5 мл злегка ксантохромної речовини, білок – 0,37 г/л, цитоз – 300 в 1 мм<sup>3</sup> (переважно нейтрофіли), після центрифугування понадосядкова рідина – прозора, злегка ксантохромна; осад – червоного кольору; мікроскопічний осад – лейкоцити на 10-12 в п/з, еритроцитів – на все п/з (не змінені), ендотелій – зрідка. Аналіз кала на мікрофлору – патогенна мікрофлора не виявлена; Аналіз крові на стерильність аеробна бактеріальна флора не виявлена; ЕКГ: ЧСС – 161 за 1 хв., миготлива тахіаритмія, шлуночкова екстрасистолія, ЕОС невідхилена, дифузне порушення реполяризації міокарда. Спіральна КТ кісток тазу, кісток стоп. На серії КТ-сканів, виконаних в аксіальній проекції, а також зображеннях, отриманих шляхом мультипланарної та 3D реконструкції, на фоні дифузного остеопорозу визначається стан після оперативного лікування (штучний тазостегновий суглоб зліва). Виявляється склерозування та кістозна трансформація криши правої вертлужної западини (явище коксартрозу). У м'яких тканинах відмічаються дифузні інфільтративні зміни. У тазу – невелика кількість ви-

поту. Повздошні лімфовузли зліва до 17 мм, пахові - до 12 мм, справа – не збільшені. На фоні дифузного остеопорозу виявляється склерозування та кістозна трансформація субхондральних пластин лівого таранно-п'яtkового суглобу (явище дефартрозу), в рещті – кістки стоп без видимої деструкції, співвідношення їх правильне. У м'яких тканинах відмічаються дифузні інфільтративні зміни.

20.09.17 у хворого на фоні сепсису, септичного панкардиту з порушення ритму по типу трепотіння передсерддй 2:1 СН II А-Б зі зниженою скоротливою здатністю міокарда розвилась зупинка серцевої діяльності, виникла клінічна смерть. Проведені реанімаційні заходи протягом 30 хв. безуспішні, у 5:00 констатована біологічна смерть. Заключний діагноз: Сепсис. Негоспітальна двобічна полісегментарна пневмонія клінічна група III ДН I. Вторинний бактеріальний менінгіт, вторинний інфекційний міокардит, перікардит. Тахісистолична форма тріпотіння передсерддй (12.09 – 14.09.17 з 15.09.17) 2:1 СН II А зі зниження систоличної функції лівого шлуночка. Аневризма черевного відділу аорти (УЗД 12.09.17) з синдромом абдомінальної ішемії та панкреатитом. Інтоксикація. Гепатоспленомегалія. Септична нефропатія. Синдром поліорганної недостатності. Набряк легень. Набряк головного мозку. ГССН, ГЛСН. Двобічний коксартроз. Стан після ендопротезування лівого кульшового суглобу (2014). Артроз лівого г/стопного суглобу. Токсикоалергічний дерматит. Варикозне розширення вен обох нижніх кінцівок. ПТФС вен лівої верхньої гомілки. Хронічний гепатит. Хронічний панкреатит.

20.09.17 Судово-медичний діагноз: Негоспітальна двобічна пневмонія. Ущільнення тканини лівої та правої легень. Наявність при бактеріологічному дослідженні шматочка легені *Klebsiella pneumoniae*. Сепсис. Наявність при бактеріологічному дослідженні крові та внутрішніх органів *Klebsiella pneumoniae*. Серозно - проліферативний арахноїдит, енцефаліт, епікардит, гепатит. Вогнищевий інтерстиційний міокардит з осередковою субендокардіальною гострою ішемією, дистрофією кардіоміоцитів. Поліорганна недостатність. Набряк, венозне повнокрів'я головного мозку. Виражена паренхіматозна дистрофія нирок з осередковим некробозом та некрозом епітелію каналців. Деліпідизація ендокриноцитів кори наднирників. Дистрофія та розпушення стінок судин внутрішніх органів з подразненням та десквамацією епітелію. Ате-

росклеротичний коронаросклероз в стадії атероматозу зі стенозом до 1/2. Паренхіматозна дистрофія, венозне повнокрів'я внутрішніх органів. Стан після надання медичної допомоги.

Таким чином, розглядаючи клінічний випадок сепсису, треба підкреслити те, що дуже важливо збирати детальний анамнез (особливо, якщо це бронхо - легенева система), враховувати де і ким працює хворий (особливо якщо це медичний працівник, та інші особи які працюють в організованих колективах), необхідно припустити в якості збудника внутрішньолікарняної інфекції. Тому потрібно мати на увазі, що збудниками можуть виступати штами полірезистентних госпітальних мікроорганізмів і тоді потрібно правильно підібрати антибіотик широкого спектру дії. Слід враховувати, що *Klebsiella pneumoniae* є надзвичайно важливим грам негативним опортуністичним збудником, що викликає перш за все інфекції сечових шляхів ( інспіраторні інфекції та бактеріємію), внаслідок особливостей будови та процесів життєдіяльності. Вже з'явилися штами мультирезистентної *Klebsiella pneumoniae* стійкі до одного з останніх антибіотиків – колістіну. Надзвичайно важливим є отримання результатів бактеріоскопічного дослідження протягом двох годин, що дає можливість передбачити патогенну флору і правильно підібрати антибіотики.

#### Література

1. Casper S., Barken K.B., Krogfelt K.A., Struve C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation // BMC Microbiology. – 2010. – Vol. 10. – P. 179.
2. Heming N., Lamothe L., Ambrosi X., Annane D. Emerging drugs for the treatment of sepsis // Expert Opinion on Emerging Drugs. – 2016. –Vol. 21 (1). – P. 27–37.
3. Kidd T.J., Mills G., Sá-Pessoa J., Dumigan A., Frank C.G., Insua J.L., et al. A *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance mechanism that subdues host defences and promotes virulence // EMBO Molecular Medicine. – 2017. – Vol 9 (4). – P. 430–447.
4. Kumar A., Roberts D., Wood K.E., Light B., Parrillo J.E., Sharma S., et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock // Critical Care Medicine. – 2006. – Vol. 34 (6). – P. 1589–1596.
5. Sun A., Netzer G., Small D.S., Hanish A., Fuchs B.D., Gaiieski D.F. Association Between Index Hospitalization and Hospital Readmission in Sepsis Survivors // Critical Care Medicine. – 2016. – Vol. 44 (3). – P. 478–487.

## ENGLISH VERSION: COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA COMPLICATED BY SEPSIS CAUSED BY KLEBSIELLA PNEUMONIAE: A CASE REPORT\*

A.V. Lavrenko

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine

*The actuality of the problem of sepsis is currently determined by several causes: a significant frequency of the disease, high lethality and, consequently, significant economic damage caused by this disease in economically developed countries. The clinical picture is systematized and outlined, questions of laboratory diagnostics, the principles of treatment are defined. Analyzed pathological changes that occur in sepsis on the part of various organs and systems. Shown the diagnostic algorithm, which is acceptable both in the presence and in the absence of laboratory verification of the disease. Starting antibacterial therapy is recommended as an empirical therapy, depending on the localization of the primary focus and systemic manifestations of infection. Thus, considering the clinical case of sepsis, one should emphasize that it is important to collect detailed medical history (especially if broncho-pulmonary system is involved), to consider where the patient works and his/her profession (especially for health-care workers, and other categories of people who work with organized groups of population). It is advisable to assume a nosocomial infection as a pathogen.*

**Keywords:** sepsis, microorganisms, antibiotics, community-acquired pneumonia.

Sepsis is a leading cause of death and disability worldwide, especially if it is not detected and treated in a timely manner [1]. Initiatives, aimed at early detection and management of sepsis in the in-patient setting, led to a reduction in sepsis mortality and an increase in the number of surviving patients [2].

Early pathogen detection in sepsis is an extremely important and responsible task of the clinician in view of the effectiveness and timeliness of prescribing adequate antibiotic therapy (ABT). It is clear that in most cases the physician is not able to obtain information about the pathogen of infection in the first hours and even days from the onset of the disease, therefore, ABT should be prescribed empirically. It should be noted that an empirical ABT does not mean the prescription of an antibacterial drug "at random": when choosing an antibiotic, the physician should take into account the probability of a potential pathogen or pathogens depending on the conditions of the disease (hospital-acquired or community-acquired infection), localization of the primary focus, duration of the disease, pre-administration of antibacterial drugs, concomitant pathology, etc.

In sepsis, the outcome of patient's treatment largely depends on the correct choice and timely application of antibacterial drug. It has been shown that 1 hour delay in the prescription of adequate antibacterial drug to patients with sepsis and septic shock (SS) increases the risk of patient's death by 7.6% [3]. Most researchers point out the crucial importance of choosing an adequate antibacterial drug for the survival of patients with sepsis and SS.

In the "community-acquired" sepsis, it is highly probable that pathogens will be the strains of opportunistic microorganisms, which in many cases are susceptible to most antibacterial drugs (protected penicillins, fluoroquinolones, cephalosporins, etc.). In case of "nosocomial" sepsis, the role of pathogens most often belongs to strains of multiresistant hospital microorganisms; in this case, when choosing an antibacterial drug, it is necessary to focus on the microbial landscape and the results of previous bacteriological studies, taking into account the primary location of the inflammatory focus. Quite often the clinician has to prescribe a combination of antibacterial drugs to "overlap" all probable pathogens, fol-

lowed by correction of ABT in accordance with the results of antibiogram.

We present a clinical case of sepsis, disguised with pneumonia, and discuss its complexity for diagnostic process and choice of rational antibiotic therapy in patients with septic condition.

A 59-year-old patient, a health-care provider by profession, was delivered by emergency team on 08.09.2017 to the admission department of the city clinical hospital with complaints of increased body temperature to 39.50C, sweating, shortness of breath with slight physical activity, nausea, and manifested general weakness.

From the history of the disease it is known that since the last summer, after having worked at a summer camp with adolescents, the patient periodically developed subfebrile temperature. About 2 weeks ago, constant subfebrile body temperature of 37.30C developed, and the abovementioned complaints increased. The patient took paracetamol and nimesil. From the history of life it is known that the patient underwent endoprosthetics of the left hip joint in 2014.

On examination: general condition of the patient is severe. The patient is conscious, adequate; productive contact is possible. The skin is clean, pale pink. Peripheral lymph nodes are not enlarged. No edema.

Respiratory rate – 20 per min, SaO<sub>2</sub> – 88%. On percussion: dullness of pulmonary sound in the lower parts on both sides. On auscultation: breathing is rigid, weakened in the lower parts, dry rales on both sides.

Pulse: 89 per min, BP – 140/90 mm Hg. The limits of relative heart dullness are enlarged to the left by 2.0 cm. Tones of the heart are rhythmic, weakened, accent of tone II on the aorta.

The tongue is covered with white coating. Abdomen is soft and painless. The liver and spleen are not enlarged. Costovertebral angle tenderness is negative on both sides.

Diagnosis on hospitalization: community-acquired bilateral multisegmental pneumonia, clinical group III, respiratory failure II. Given the severity of the condition, the patient was hospitalized in the intensive care unit (ICU).

On examination 08.09.17: CBC: Hb – 146 g/l, erythrocytes – 4.8 x 10<sup>12</sup>/l, color index – 0.91, platelets –

\* To cite this English version: A.V. Lavrenko. Community-acquired pneumonia complicated by sepsis caused by *Klebsiella pneumoniae*: a case report. // *Problemy ekologii ta medytsyny*. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 51–55.

150x10<sup>9</sup>/l, leukocytes – 17.0x10<sup>9</sup>/l, ESR – 12 mm/g, leukocyte count: stab – 8%, segmented – 74%, eosinocytes – 1%, lymphocytes – 14%, monocytes – 3%; blood sugar – 4.9 mmol/l; biochemical blood assay: bilirubin – 16.2 mmol/l, conjugated – 2.4 mmol/l, unconjugated – 13.8 mmol/l, creatinine – 108.3 mmol/l, urea – 6.2 μmol/l, total nitrogen – 29 g/l, total protein – 59 g/l, potassium concentration in serum – 3.93 mmol/l, chlorine – 103.1 mmol/l, calcium – 1.28 mmol/l. Urinalysis: color – yellow, reaction – neutral, specific gravity – 1018, transparency – transparent, bile pigments – negative, protein – traces, sugar – nil, microscopy: mucus – normal, epithelium – rarely, leukocytes – 2-4 per HPF, erythrocytes – 20-25 per HPF, cylinders – nil; ECG: heart rate – 90 per 1 minute, sinus rhythm. Electrical axis of the heart is not deviated. Disrupted processes of repolarization of the posterior side of the left ventricle. Chest X-ray: local amplification in the lower lobe to the right, condensation of the pulmonary figure. Roots are dense, the heart is structurally enlarged to the left.

The following treatment was prescribed: levofloxacin 1000 mg – 100.0 ml i.v., cefepime 1000 mg i.v., azithromycin 0.5 per os, dexamethasone 8 mg – 2 ml i.v., analgin 50% – 4.0 i.v., lysine acetylsalicylate 1.0 i.m., ambroxol hydrochloride 2.0 ml i.v., rheosorbilact 200.0 ml i.v., 10% glucose – 400.0 ml, 10 units of insulin, sodium chloride 10% – 30.0 ml, potassium chloride 7.5% – 30.0 ml, eufillin 2.4% – 10.0 ml, strophanthin 0.25 mg – 1.0 ml i.v., heparin 2.5 thous. i.v. In the intensive care unit on 09.09.17, there were complaints of increased body temperature to 39.00C, sweating, shortness of breath with slight physical exertion, nausea, and manifested general weakness. The patient's condition is steadily severe. Hemodynamics is stable. Treatment has not been changed.

On 10.09.17, the patient's previous complaints are joined by pain in the epigastrium, right hypochondrium, nausea and biliary vomiting. On examination: no acute surgical pathology was detected.

GP on duty diagnosed acute pancreatitis. The treatment was supplemented with pantoprazole 40 mg i.v., No-SPA 2.0 ml i.v., metoclopramide hydrochloride 2.0 ml i.m., magnicor 75 mg, liprazidum 10 mg per os (taking into account the accompanying hypertension in the anamnesis). At 19:00, the patient developed a reaction to cefepime administering, manifested by chills, fever up to 39.50C, headache. This reaction was evaluated as endotoxemia (Yarysh-Herxheimer's reaction), which occurs several hours after the start of treatment with specific antibacterials, associated with rapid release of antigens, endotoxins in the mass death of bacteria – causative agents, leading to uncontrolled immune response. In a day, the patient's condition stabilized. Cefepim administering was withdrawn.

On 11.09.17 at 09:30 the patient was transferred to the pulmonology department. On examination by the pulmonologist, the patient began to complain of severe pain in the lumbar spine, which did not occur before, and increase in body temperature up to 39.0C. On objective examination: pain in the pyloroduodenal area, increased liver by 4 cm below the costal arch 13x11x8 cm and spleen by 3 cm 14x9 cm Examination by the gastroenterologist and urologist: duodenal ulcer? Chronic hepatitis in the stage of exacerbation. Chronic pancreatitis in the stage of exacerbation. Salt diathesis. Microhematuria. Additional methods of examination are assigned: fibrogastroduodenoscopy (FGDS), prostate-specific antigen.

On chest X-ray: local enhancement of the pulmonary pattern in the lower parts. The roots are thickened, enlarged. Sinuses are loose. The heart is enlarged to the left.

The treatment at pulmonology department was prescribed: ceftazidime 1.0 g i.v. once a day and 1.0 g i.m. once a day, amikacin 0.5 g/m 2 once a day, ornidazole 500 mg – 100.0 ml i.v. once a day, prednisone 30 mg, analgin 50% – 2.0 ml i.m. once a day, erdosteine 1 tab. 2 times a day, acetylcysteine 600 mg 1 tab. once a day, biodeval 2 doses 3 times a day, vitamin C 5% 4.0 ml i.v. once a day, sodium chloride 0.9 % – 800.0 ml, panangin 10.0 ml, metoclopramide hydrochloride 2.0 ml i.m. 2 times a day, reopolyglucin 200.0 ml i.v. once a day, famotidine 40 mg i.v. once a day, arginine glutamate 40% – 10.0 ml i.v. once a day, platyphyllin 0.2% – 1.0 s/c once a day, pantoprazole 40 mg i.v. once a day.

On 12.09.17 at 09:30 the patient's condition deteriorated: nausea and vomiting re-appeared; epigastric pain intensified, red papules appeared in the area of head and lower extremities. Concilium was conducted, diagnosis: acute pancreatitis. Pancreatonecrosis? Duodenal ulcer in the stage of exacerbation. Intoxication syndrome. DIC-syndrome. Community-acquired right-sided lower lobe pneumonia, RFo. Myocardial dystrophy. Hepatolienal syndrome. Varix dilatation of the lower extremities.

Examination by the surgeon – no acute surgical pathology was found.

Approximately at 13:00, the patient developed pain in the muscles and joints. The patient was examined by the neuropathologist: on assessing the neurological status, the stiffness of the muscles in the neck is absent, strength and muscle tone are preserved. Computer tomography of the brain was recommended. The infectiologist assigned a blood test for leptospirosis, brucellosis, pseudotuberculosis, intestinal yersiniosis, blood sterility for three times, to clarify the diagnosis. At 2:00 pm the patient's condition deteriorated, the patient was transferred to ICU.

On examination: blood sugar 11.0 mmol/L; urine diastase – 64 units; blood α-amylase – 36 units/l; blood group and Rh factor 0 (I) Rh – negative; ECG: heart rate – 165 per 1 min., atrial flutter with regular conduction 2:1. Ventricular arrhythmia. Electrical axis of the heart is horizontal. Disrupted processes of repolarization of the posterior – lateral area of the left ventricle. Ultrasonography of the abdominal cavity organs: signs of diffuse changes in the liver, hepato-spleenomegaly, chronic cholecystitis with congestive events, chronic pancreatitis. Nephropathy, urine acid diathesis. Aneurysm of the supra-renal aorta. Intestinal meteorism. CT of the abdominal cavity organs: CT signs of hepatosplenomegaly, hepatosis; congestive gallbladder, chronic cholecystitis, chronic pancreatitis; salt diathesis; increased mediastinal and iliac left lymph nodes; atherosclerosis of the aorta and ileac arteries; deforming spondylosis, spondylarthrosis, supposedly spondilodiscitis in L5 – S1; CT of the brain: CT signs of cerebral atherosclerosis, dyscirculatory encephalopathy with the phenomena of moderate cerebral atrophy, cysts of the right sinus of the nose.

Treatment with detoxification drugs was continued, amikacin 0.5 g / i.m. 2 times a day, sodium chloride 0.9% – 400.0 ml, arginine glutamate 40% – 10.0 ml i.v. once a day, pantoprazole 40 mg i.v. once a day, meropenem 1.0 g i.v. once a day, enoxaparin sodium 0.4 s/c once a day.

On 13.09.17, in the objective status of patient, neurological symptoms began to increase: pain in muscles,

joint, lower extremities intensified. Re-examination by the neurologist: stiffness of neck muscles (++) , Kernig's symptom (++) on both sides. Re-examination by the hospital infectiologist and regional infectious disease doctor. Diagnostic lumbar puncture, analysis of blood and liquor for herpes virus 1 and 2 types, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus were assigned. Examination by the surgeon due to varicose veins of the lower limbs: acute surgical pathology not found. Varicose veins of the lower extremities without manifestations of thrombosis. Consultation of the otorhinolaryngologist: distortion of the nasal septum with nasal breathing disorder. A lumbar puncture was performed, 1.0 ml of whitish cloudy substance was taken.

On examination: results of serological blood tests, antibodies to pathogens of leptospirosis, brucellosis, pseudotuberculosis, intestinal yersiniosis – not found. In blood analysis, malarial plasmodium is not detected. Analysis of feces and urine for salmonella is negative. PCR Herpes simplex virus 1 and 2 types (blood, qualitative definition) – not detected. Herpes simplex virus 1 and 2 types (liquor, qualitative definition) – not detected. Herpes virus type 6 (blood, quantitative determination) –not detected. Cytomegalovirus (blood, qualitative definition): cytomegalovirus not detected. Cytomegalovirus (liquor, quantitative determination) – not detected. Epstein-Barr virus (blood, quantitative determination): Epstein-Barr virus (Lg) – 3.59, Epstein-Barr virus (copies) –  $3.92 \times 10^3$ . Epstein-Barr virus (liquor, quantitative determination) – not detected. Blood test for sterility – aerobic bacterial flora has not been detected. Ultrasound of the great vessels of the lower extremities: varicose enlargement of the subcutaneous veins of both lower extremities, postthrombophlebitic syndrome of the subcutaneous veins of the left leg, chronic venous insufficiency. FGDS: erythematous gastropathy. Echocardiological study: US – signs of decreased contractility of the myocardium, left ventricular enlargement, moderate fibrosis of the MV and AV, additional chord in the left ventricle (ejection fraction – 49%). Concilium was conducted; preliminary diagnosis: Sepsis. Community-acquired bilateral polysegmental pneumonia, RF 0 – I. Secondary bacterial meningitis. Hepatolienal syndrome. Aneurysm of the abdominal aorta. Varicose veins of both lower extremities. Postthrombophlebitic syndrome of the veins of the left shin. Chronic venous insufficiency.

The patient continues to receive detoxification therapy, it is recommended to add levomycetin succinate 1.0 g 3 times a day i.v., metronidazole 500 mg – 100.0 ml once a day i.v., fluconazole 200 mg 1 once a day i.v.

As of 14.09.17, the patient's condition is severe. Hemodynamics is stable. The lumbar puncture is re-conducted. Examination by the otorhinolaryngologist: taking into account the CT of 12.09.17, and the neoplasm in the right maxillary sinus, the diagnostic puncture is recommended. The content of the sinus is fluid 1.5 ml, no pathological secretions. After the puncture in the sinuses of the nose, a solution of dioxidine 1%-2.0 ml was administered. Consultation by the neurologist: rigidity of the neck muscles increases (+++), Kernig's symptom (+++) on both sides, upper and lower Brudzinski's symptom.

Consultation by the traumatologist to exclude the source of infection in the joint. Diagnosis: endoprosthesis condition of the left hip joint, no pathological changes were detected.

On examination: CBC: Hb – 127 g/l, erythrocytes –  $4.0 \times 10^{12}/l$ , platelets –  $220 \times 10^9/l$ , color index – 0.95, leukocytes –  $34.1 \times 10^9/l$ , ESR – 38 mm/g, leukocyte count:

stab – 19%, segmented – 70%, lymphocytes – 8%, monocytes – 2%, toxic granular neutrophils, Ht – 40%; ECG: heart rate – 105 per 1 minute, sinus rhythm resumed. Electrical axis of the heart is horizontal. Disrupted processes of repolarization on the posterior-lateral side of the left ventricle. CSF smear by Ziehl-Nielsen: acid-resistant bacilli were not found. CSF clinical analysis: 1.0 ml of whitish turbid substance, protein – 1.47 g/l, cytosis – 950 in 1 mm<sup>3</sup> (mostly neutrophils), after centrifugation, supernatant fluid – clear, without color; precipitate – white; microscopic sediment – leukocytes on  $\frac{1}{2}$  per HPF, erythrocytes – 4-6 per HPF, endothelium – occasionally, NA reaction – positive (+++), glucose – 6.9 mmol/l. Oncologic panel (oncologic oncomarkers) total prostate-specific antigen – 2.86 ng/ml (norm up to 4, 0 ng/ml). Blood test for IgG and IgM antibodies: *Borrelia burgdorferi*, IgG antibodies – 0.29 (negative), *Borrelia burgdorferi* IgM antibodies – 0.12 (negative). Analysis of excretions from the right sinus of the nose for the microflora sensitivity to antibiotics – *Acinetobacter*  $2.5 \times 10^4$  sensitive only to piperacillin/tazobactam, not sensitive to other antibiotics. Blood test for sterility – aerobic bacterial flora has not been detected. The patient's treatment has not been changed.

15.09.17: The patient's condition is severe. Level of consciousness: deep sopor. Persisting increase of body temperature up to 38.50C, papules on the skin of the trunk, the lower limbs, positive Kernig's and Brudzinski's symptoms. Re-examination by the regional infectiologist after lumbar puncture results, diagnosis of sepsis, with damage to the lungs (bilateral segmental pneumonia, RF II), secondary purulent meningoencephalitis. After concilium, the diagnosis was made: Sepsis. Community-acquired bilateral polysegmental pneumonia, RF I. Secondary bacterial meningitis. Hepatolienal syndrome. Multiple organ failure syndrome. Aneurysm of the abdominal aorta. Varicose veins of both lower extremities. Postthrombophlebitic syndrome of the veins of the left shin. Chronic venous insufficiency. Endoprosthesis condition of the left hip joint. It was recommended to repeat lumbar puncture and conduct dermatologist's consultation. Diagnosis of the dermatologist: toxicallergic dermatitis.

On examination 15.09.17: CBC: Hb – 131 g/l, erythrocytes –  $4.0 \times 10^{12}/l$ , platelets –  $200 \times 10^9/l$ , color index – 0.98, leukocytes –  $31.7 \times 10^9/l$ , ESR – 47 mm/g, leukocyte count: stab – 8%, segmented – 83%, lymphocytes – 6%, monocytes – 2%, toxic granular neutrophils, hypersegmented neutrophils, Ht – 39%; blood sugar – 6.6 mmol/l. Urine analysis: color – light yellow, reaction – acidic, specific gravity – 1023, transparency – cloudy, bile pigments – negative, protein – 0.183 g/l, sugar – nil, microscopy: mucus – elevated, epithelium – rarely, leukocytes – 10-12 per HPF, red blood cells – 6-8 per HPF, cylinders – 0-2 per HPF. Bacterioscopy of fauces material – m/f – insignificant coccal, gram-negative. CSF analysis by gram staining: m/f – insignificant coccal, gram-negative. ECG: heart rate – 171 per 1 minute, atrial flutter with regular conduction 2:1. Blood sterility analysis for aerobic bacterial flora was not detected. Ventricular arrhythmia. Electrical axis of the heart is horizontal. Diffuse disturbance of repolarization processes in posterior-lateral area of the left ventricle. Ultrasound of the abdominal cavity: US signs of diffuse changes in the liver and hepato-splenomegaly, chronic cholecysto-pancreatitis. Nephropathy, uratic diathesis. Bilateral hydrothorax. Aneurysm of the abdominal aorta. Intestinal flatulence.

It was recommended to amplify the treatment with vancomycin hydrochloride 1.0 g 2 times a day i.v., fresh-frozen plasma 300.0 ml i.v. once a day, albumin 100.0 ml, linex (drops) 2 ml 3 times daily, sodium chloride 0.9% – 200.0 ml, lioliv 1 vial (containing lecithin – standard 320 mg, antral – 4.2 mg) i.v. once a day.

16.09.17: The patient's condition is severe. Level of consciousness: deep sopor. Productive contact is not available. On ECG: atrial flutter, heart rate 150-160 per minute. Consultation by the cardiologist: Sepsis. Secondary infectious myocarditis, pericarditis. Paroxysmal form of atrial fibrillation (12.09. – 14.09.17, from 15.09.17) 2:1 HF II A with reduced left ventricular systolic function. Aneurysm of the suprarenal aorta (ultrasound study as of 12.09.17). The treatment was supplemented with glucose 5% – 200.0 ml, cordaron 300 mg i.v.

17.09.17: The patient's condition is severe. The patient is conscious, contact is available. Hemodynamics is stable. Re-examination by the neurologist: stiff neck muscles (++), Kernig's symptom is negative. I/M antistaphylococcal immunoglobulin 200 IU was administered. Treatment has not been changed.

18.09.17: The patient's condition is severe. The patient is conscious, contact is available. The patient developed swellings of the upper and lower limbs, stiffness of the neck muscles decreased (+ –). Concilium was conducted: Sepsis. Community-acquired bilateral polysegmental pneumonia, RF I. Secondary bacterial meningitis. Hepatolienal syndrome. Multiple organ failure. Aneurysm of the abdominal aorta. Secondary infectious myocarditis, pericarditis. Paroxysmal atrial fibrillation form (12.09. – 14.09.17, from 15.09.17) 2:1 HFIIA with reduced left ventricular systolic function. Aneurysm of the suprarenal aorta. (US of 12.09.17). Varicose veins of both lower extremities. Postthrombophlebitic syndrome of the left leg. Chronic venous insufficiency. Condition after the left hip joint endoprosthesis. Deflected nasal septum with nasal breathing disorder. Cysts of the maxillary right sinus. Diagnostic puncture of the right maxillary sinus (14.09.17). Toxicallergic dermatitis.

On examination: echocardiography – reduced myocardial contractility, increased left portions of heart, fibrosis of MV and AV cusps, hypokinesis of interventricular septum, additional chord in the left ventricle, hydrothorax to the left (ejection fraction – 47%). On chest radiograph in horizontal position: non-standard projection with dynamic frequency, as compared to 08.09.17, negative dynamics. In the projection of both lung fields from level II of intercostal space to the bottom right - decreased pneumatization of lung tissue. The roots are not differentiated. The heart is enlarged in cross section. Bacterial inoculation from the nose for sensitivity to antibiotics: pathogenic bacterial flora was not found; coagulogram: prothrombin – 61.0%, fibrinogen – 2.78 g/l.

I/M antistaphylococcal immunoglobulin 200 IU was administered. Treatment has not been changed.

19.09.17: The patient's condition is severe. The patient began to develop respiratory and cardiovascular failure. Hemodynamic instability.

On examination: CBC: Hb – 120 g / l erythrocytes –  $3.8 \times 10^{12}/l$ , tr. – 360 x 109/l, color index – 0.94, leukocytes –  $21.3 \times 10^9/l$ , ESR – 40 mm/h, leukocyte count: stab – 5%, segmented – 85%, lymphocytes – 7%, monocytes – 8%, Ht – 37%; blood sugar – 11.2 mmol/l; biochemical blood assay: bilirubin – 24.0 mg/dL, conjugated – 4.0 mmol / l., unconjugated – 20.0 mmol/l., ALT – 22 U/L, AST – 26 U/L, creatinine – 70 mmol/l., urea – 8.7

mmol/l. Total protein – 42 g/l, potassium – 3.83 mmol/l, chlorine – 108.7 mg/dL, calcium – 1.18 mmol/l. Urine microflora for the sensitivity to antibiotics – aerobic bacterial flora was not found. Analysis of CSF for microscopy – m/f insignificant coccal gram (negative). Clinical analysis of CSF: 0.5 ml of slightly xanthochromic substance, protein – 0.37 g/l, cytosis – 300 in 1 mm<sup>3</sup> (mainly neutrophils), after centrifugation supernatant fluid – transparent, slightly xanthochromic; sediment – red color; microscopic sediment – leukocytes 10 – 12 per HPF, erythrocytes – throughout per HPF (not changed), endothelium – occasionally. Analysis of stool microflora – pathogenic microflora was not found. Blood tests for sterility – aerobic bacterial flora not found. ECG: heart rate – 161 per 1 min. Atrial tachyarrhythmia, ventricular arrhythmia. Electrical axis of the heart is not deviated. Diffuse disturbance of myocardium repolarization. Spiral CT of the pelvis and feet. In a series of CT scans in axial projection and images obtained by multiplanar and 3D reconstruction, against the background of diffuse osteoporosis there is a condition after surgical treatment (artificial hip joint on the left). There are sclerosing processes and cystic transformation of the right acetabular roof (coxarthrosis phenomenon). In the soft tissues: diffuse infiltrative changes. In the pelvis – a small amount of effusion. Iliac lymph nodes to the left up to 17 mm, inguinal – up to 12 mm, to the right – not enlarged. Against the background of diffuse osteoporosis, there are sclerosis and cystic transformation of the subchondral plates of the left talocalcaneus joint (deforming arthrosis phenomenon), in the rest – bones of feet with no apparent destruction, correct proportion. In the soft tissues: diffuse infiltrative changes.

20.09.17: Against the background of sepsis, septic pancarditis with arrhythmias by the atrial fibrillation type 2:1 HF II A – B with reduced contractility of the myocardium, the patient developed cardiac arrest, and sustained clinical death. Resuscitation activities were carried out for 30 minutes, unsuccessfully. At 5:00, natural death was pronounced. The final diagnosis: Sepsis. Community-acquired bilateral polysegmental pneumonia, clinical group III RF I. Secondary bacterial meningitis secondary infectious myocarditis, pericarditis. Tachysystolic form of atrial fibrillation (12.09 – 14.09.17 from 15.09.17) 2:1 HF II A with reduction of left ventricular systolic function. Aneurysm of the abdominal aorta (ultrasound study as of 12.09.17) with abdominal ischemia syndrome, and pancreatitis. Intoxication. Hepato-splenomegaly. Septic nephropathy. Multiple organ failure. Pulmonary edema. Cephaloedema. AHF, APF. Bilateral coxarthrosis. Condition after the left hip joint endoprosthesis (2014). Arthrosis of the left ankle joint. Toxicallergic dermatitis. Varicose veins of both lower extremities. Postthrombophlebitic syndrome of the veins of the left upper leg. Chronic hepatitis. Chronic pancreatitis.

20.09.17: Forensic diagnosis – Community-acquired bilateral pneumonia. Induration of left and right lungs. Klebsiella pneumoniae is detected in the bacteriological study of lung fragment. Sepsis. Klebsiella pneumoniae is observed in bacteriological examination of blood and internal organs. Serous-proliferative arachnoiditis, encephalitis, epicarditis, hepatitis. Focal interstitial myocarditis with focal subendocardial acute ischemia, dystrophy of cardiomyocytes. Multiple organ failure. Edema, venous plethora of the brain. Severe renal parenchymal dystrophy with focal necrobiosis and necrosis of epithelial tubules. Delipidization of endocrinocytes of the adrenal cortex. Dystrophy and dissolution of vessel walls in viscera

with irritation and desquamation of epithelium. Atherosclerotic coronarosclerosis in the stage of atheromatosis with stenosis up to 1/2. Parenchymal dystrophy, venous plethora of internal organs. The condition is reported after providing medical care.

Thus, considering the clinical case of sepsis, one should emphasize that it is important to collect detailed medical history (especially if broncho-pulmonary system is involved), to consider where the patient works and his/her profession (especially for health-care workers, and other categories of people who work with organized groups of population). It is advisable to assume a nosocomial infection as a pathogen. Hence, one must bear in mind that strains of multiresistant nosocomial microorganisms can act as pathogen, and in this case it is necessary to choose an adequate antibiotic of broad spectrum. It is essential to take into account that *Klebsiella pneumoniae* is an extremely important gram-negative opportunistic pathogen that causes primarily urinary tract infections (inspiratory infections and bacteremia), due to the nature of its structure and metabolic processes. Strains of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*, insusceptible to one of the latest antibiotics – colistin, – have already appeared. The results of bacterioscopic study

during two hours are of particular importance, since they make it possible to predict the pathogenic flora and choose the correct antibiotics.

#### **Referense**

1. Casper S, Barken KB, Krogfelt KA, Struve C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. *BMC Microbiology*. 2010;10:179.
2. Heming N, Lamothe L, Ambrosi X, Annane D. Emerging drugs for the treatment of sepsis. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2016;21(1):27-37.
3. Kidd TJ, Mills G, Sá-Pessoa J, Dumigan A, Frank CG, Insua JL, et al. A *Klebsiella pneumoniae* antibiotic resistance mechanism that subdues host defences and promotes virulence. *EMBO Mol Med*. 2017 Apr;9(4):430-447.
4. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006 Jun;34(6):1589-96.
5. Sun A, Netzer G, Small DS, Hanish A, Fuchs BD, Galeski DF. Association Between Index Hospitalization and Hospital Readmission in Sepsis Survivors. *Crit Care Med*. 2016 Mar;44(3):478-87.

*Матеріал надійшов до редакції 23.11.2017*

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Авраменко Я.М., Борзих О.А.  
УДК: 616.24-00872.72:616-07-037

### МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО ЗБОРУ ТА АНАЛІЗУ КОНДЕНСАТУ ВОЛОГИ ВИДИХУВАНОВОГО ПОВІТРЯ\*

Авраменко Я.М., Борзих О.А.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

*В настоящее время одним из перспективных неинвазивных методов диагностики в пульмонологии, кардиологии, эндокринологии, онкологии является исследование конденсата влаги выдыхаемого воздуха (КВВ). Существенным ограничением исследования КВВ в клинической практике является отсутствие общепринятых стандартов его сбора и изучения содержания в нем биологических веществ, имеющих ультра низкие концентрации. Всплеск научного и практического интереса к данному вопросу привел к организации целевой группы American Thoracic Society и European Respiratory Society и разработки рекомендаций по забору конденсата. Нами были изучены и проанализированы рекомендации ATS/ERS и разработан алгоритм забора КВВ.*

**Ключевые слова:** конденсат выдыхаемого воздуха, рекомендации ATS/ERS, биомаркеры, алгоритм сбора конденсата.

Одним з важливих напрямків сучасної медицини є неінвазивна діагностика. Актуальність проблеми обумовлена щадними методами забору матеріалу для аналізу, коли пацієнту не доводиться відчувати біль, фізичний і емоційний дискомфорт; безпекою досліджень через неможливість зараження інфекціями, що передаються через кров або інструментарій. Неінвазивні методи діагностики можуть застосовуватися, з одного боку, в амбулаторних умовах, що забезпечує їх широке поширення; з іншого боку - у пацієнтів в реанімаційному відділенні, тому що тяжкість стану хворого не є протипоказанням для їх виконання. Вданий час одним із перспективних неінвазивних методів в пульмонології, кардіології, ендокринології, онкології є дослідження конденсату вологи видихуваного повітря (КВВП). КВВП містить багато компонентів, основним з яких є видихувана конденсована рідина: вона складає 99% об'єму КВВП. Лише незначна її фракція містить нелеткі молекули, які можуть бути гідрофільні та гідрофобні. Леткі водорозчинні частинки при конденсації адсорбуються разом з рідиною. КВВП не містить клітин, однак в ньому багато представлених різні біологічно активні речовини, які продукуються клітинними елементами слизової дихальних шляхів про, що вже є багато доказів [1], [2], [3].

Суттєвим обмеженням дослідження КВВП в клінічній практиці є відсутність загальноприйнятих стандартів його збору і вивчення вмісту в ньому біологічних речовин, що мають ультра низькі концентрації.

Основними шляхами вирішення проблеми є стандартизація та створення уніфікованих підходів до збору та аналізу КВВП. Вразі вирішення цих основних проблемних напрямків, буде отримано більше доказовості та ефективності застосування даного методу діагностики. Сплеск наукового та практичного інтересу до даного питання призвів до організації цільової групи American Thoracic Society та European Respiratory Society в 2001 році та розробки рекомендацій по забору конденсату опублікованих в 2005 році [1] з переглядом та внесеними змінами в 2012 р. [3] та 2013 р. [4]. На даному етапі існуючі проблеми вирішуються шляхом слідування рекомендацій ATS/ERS по КВВП:

- стандартизація термінології;
- визначення складу КВВП;
- опис процедури збору конденсату.

Результатом впровадження рекомендацій ATS/ERS є подальший розвиток даного напрямку неінвазивної діагностики захворювань:

- серійне виготовлення спеціальних пристроїв для збору конденсату - типу EcoScreen® - (Jaeger Tonnie Hoeschberg, Німеччина); трубка R - Tube® -(Respiratory Research, Inc., США), та комплектуючих – загубники, уловлювачі слини, носові кліпси та інші.

- сформульовано загально прийняті умови проведення процедури збору КВВП: час збору конденсату, тривалість процедури, кількість конденсату, температура охолодження під час збору конденсату та температуру зберігання проб до проведення аналізу, інтен-

\* Цитування при атестації кадрів: Авраменко Я.М., Борзих О.А. Методичні підходи до збору та аналізу конденсату вологи видихуваного повітря // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 56–58.



сивність видиху, маневр видиху, контроль забруднення слиною, положення тіла під час процедури, підготовка пацієнта до проведення процедури (полоскання рота, утримання від їжі та паління).

- виділено нові субстрати в КВВП: інтерлікіни, цитокіни, хемокіни, ейкозаноїди, еритропоетин, аденозин, ДНК та інші.

Аналізуючи сучасні рекомендації нами створений алгоритм процедури збору КВВП:

1. Технічні умови:

Для отримання КВВП допустимо використання комерційних приладів або саморобних. Оптимальним для проведення процедури є використання комерційних моделей конденсаторів, так як це дозволяє уникнути багатьох проблем. Комерційні моделі типу EcoScreen®, Jaeger, Apasop мають односпрямований клапан, який попереджує випадкове попадання охолодженого повітря із конденсатора при вдиху, що важливо для попередження змішування повітря. R - Tube® - індивідуальні, не потребують дезінфекції та виключають потрапляння залишку миючих засобів до КВВП, що також негативно впливає на склад конденсату. Пристрій повинен мати уловлювач слини з ротом загубником, оскільки важливий постійний контроль забруднення КВВП слиною так як вже доведено, що забруднення слиною може впливати на рівень різних медіаторів у КВВП. А от використання фільтру, навпаки, не рекомендується оскільки він може стати паскою для молекул, що містяться в видихуваному повітрі. В якості охолоджувального компонента застосовуються лід, етанол, рідкий азот, заморожені металеві трубки.

В разі використання саморобного пристрою необхідно обов'язково вказати детальну інформацію про конструкцію (уловлювач слини, його опір, матеріал конденсаційної поверхні, метод охолодження, температура конденсатора, їх стійкість протягом періоду збирання).

Пристрій збирають перед початком процедури.

2. Підготовка хворого до проведення процедури:

- Проведення дослідження повинно відбуватися зранку (8.00-12.00), натще серце або щонайменше через 8 год. після легкого сніданку. При повторному обстеженні в інший день, дослідження бажано проводити в один й той самий час доби.

- Не палити протягом 24 годин та не вживати алкоголь[6].

- Не приймати лікарських засобів за 12 год до процедури.

- Перед початком проведення дослідження хворому доступно пояснюють методику проведення, інструктують, а за потреби (діти, пацієнти похилого віку) демонструють процедуру звертаючи увагу на інтенсивність, тривалість видиху, періоди відпочинку, контроль забруднення слиною).

- Проводити дослідження в спокої, не менше ніж через 30 хвилин після фізичного навантаження. Перед дослідженням перепочити 10-15 хвилин.

- Проводити дослідження в одязі, який не стискає грудну клітку, не пережимає верхні дихальні шляхи, та обов'язково звільнивши ротову порожнину від сторонніх предметів (зубні протези, гумка тощо).

- Пацієнту пропонують ретельно зняти з області губ сліди можливого забруднення (слина, косметика, залишки їжі) марлевою серветкою, змоченою дистильованою водою, а потім пропонують тричі прополоскати рот теплою кип'яченою водою.

3. Проведення збору конденсату:

- Усадити пацієнта в зручне сидяче положення, в спокійній обстановці, з відчуттям максимального комфорту.

- Проводити дослідження обов'язково з використанням носової кліпси під час видиху, кліпсу пацієнт знімає при кожному вдосі через ніс.

- Під час дослідження пацієнт повинен щільно затиснути губами загубник, та не повинен закривати загубник язиком або зубами під час видиху.

- Для отримання 1-2 мл. конденсату в середньому потрібно 10 – 15 хв. За умови правильного, рівномірного, не надто повільного видиху через рот, а вдиху тільки через ніс, без втоми пацієнта. Під час збору конденсату потік видихуваного повітря завжди направлений безпосередньо в охолоджену камеру де й збирається у вигляді конденсату.

- При необхідності, повторне дослідження можна провести після відпочинку через 30 хвилин або відкласти на інший день.\*

4. Зберігання та аналіз конденсату

- Зразки КВВП повинні бути заморожені відразу після збору і зберігатися при температурі -70 °С до проведення аналізів. Якщо плануються вимірювання більш ніж одного маркера, то зразки слід збирати в різні пробірки, для того щоб уникнути подальших циклів заморожування-розморожування, які можуть зруйнувати біологічні речовини.

- Більшість медіаторів, які виявляються в КВВП, містяться в ультра низьких концентраціях, а вимірювані значення мають велику варіабельність. Потенційним рішенням даної проблеми є концентрування зразків, яке дозволяє підвищити чутливість і відтворюваність методу. З цією метою можна застосувати ліофілізацію, ресуспензування і вакуумне випаровування в залежності від природи біомаркерів, які планується досліджувати.

*Примітка\* На даний момент немає досліджень, які свідчать про вплив затримки дихання, вплив кашлю (як довільного, так і індукованого) під час процедури, на концентрацію біомаркерів у КВВП, Об'єм КВВП не залежить від функціональних показників легень, включаючи об'єм форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ1) і форсовану життєву ємність легень (ФЖЄЛ), у здорових суб'єктів і хворих з бронхообструктивними захворюваннями. В даний час немає даних, що вказують на зміну концентрації маркерів в КВВП при зміні калібру дихальних шляхів, немає даних про потенційний вплив раси, статі і положення тіла під час збору КВВП.*

**Висновки:**

1. Наразі в Україні через відсутність національних рекомендацій по збору та аналізу КВВП варто слідувати рекомендаціям ATS/ERS [1].

2. Застосування наведеного алгоритму, створеного на ґрунті рекомендацій ATS/ERS може суттєво поширити впровадження даного методу дослідження в різних галузях медицини, стандартизації аналізу біомаркерів.

**Література**

1. Horvath I., Hunt J., Barnes P.J. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions // Eur. Respir. J. 2005; 26: 523-548.
2. Liang Y., Yeligar S.M., Brown L.A.S. Exhaled breath condensate: a promising source for biomarkers of lung disease // The Scientific World J. 2012. Article ID 217518: 7 p. – URL: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/217518>

3. Ahmadzai H., Huang S., Hettiarachchi R., Lin J.L., Thomas P.S., Zhang Q. Exhaled breath condensate: a comprehensive update // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51(7): 1343-1361.
4. Hoffmeyer F., Raulf-Heimsoth M., Brüning T. Exhaled breath condensate and airway inflammation // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 9(1): 16-22.
5. Scheideler L., Manke H.G., Schwulera U., Inacker O., Hammerle H. Detection of nonvolatile macromolecules in breath. A possible diagnostic tool? // *Am Rev Respir Dis.* 1993; 148: 778-784.
6. Garey K., Neuhauser M.M., Robbins R.A., Danziger L.H., Rubinstein I. Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers // *Chest.* 2004; 125: 22-26.
7. Dekhuijzen P.N., Aben K.K.H., Dekker I., Aarts L.P., Wielders P.L., van Herwaarden C.L. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary diseases // *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154: 813-816.
8. Kasielski M., Nowak D. Long-term administration of N-acetylcysteine decreases hydrogen peroxide exhalation in subjects with chronic obstructive pulmonary disease // *Resp Med.* 2001; 95: 448-456.
9. Ho L.P., Faccenda J., Innes J.A., Greening A.P. Expired hydrogen peroxide in breath condensate of cystic fibrosis patients // *Eur Respir J.* 1999; 13: 103-106.
10. Carpagnano G.E., Kharitonov S.A., Resta O., Foschino-Barbaro M.P., Gramiccioni E., Barnes P.J. Increased 8-isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients // *Chest.* 2002; 122: 1162-1167.
11. Shahid S.K., Kharitonov S.A., Wilson N.M., Bush A., Barnes P.J. Increased interleukin-4 and decreased interferon- $\gamma$  in exhaled breath condensate of children with asthma // *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165: 1290-1293.
12. Carpagnano G.E., Resta O., Foschino-Barbaro M.P., Gramiccioni E., Carpagnano F. Interleukin-6 is increased in breath condensate of patients with non-small cell lung cancer // *Int J Biol Markers.* 2002; 17: 141-145.
13. Bucchioni E., Kharitonov S.A., Allegra L., Barnes P.L. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate in patients with COPD // *Respir Med.* 2003; 97: 1299-1302.
14. Carpagnano G.E., Kharitonov S.A., Foschino-Barbaro M.P., Resta O., Gramiccioni E., Barnes P.J. Increased inflammatory markers in the exhaled breath condensate of cigarette smokers // *Eur Respir J.* 2003; 21: 589-593.
15. McRae K., De Perrot M., Fischer S., Waddell T.K., Liu M., Keshavjee S. Detection of IL-10 in the exhaled breath condensate, plasma and tissue during ischemia-reperfusion injury in experimental lung transplantation // *J Heart Lung Transplant.* 2001; 20: 184.
16. Shi T., Su D., Liu T., Tang K., Camp D.G., Qian W.J., Smith R.D. Advancing the sensitivity of selected reaction monitoring-based targeted quantitative proteomics // *Proteomics.* 2012; 12(8): 1074-1092.
17. Brand J., Haslberger T., Zolg W., Pestlin G., Palme S. Depletion efficiency and recovery of trace markers from a multiparameter immunodepletion column // *Proteomics.* 2006; 6(11): 3236-3242.

## ENGLISH VERSION: METHODOLOGICAL APPROACHES TO COLLECTING AND ANALYZING THE EXHALED BREATH CONDENSATE\*

Ya.M. Avramenko, O.A. Borzykh

Higher State Educational Establishment of Ukraine «Ukrainian Medical Stomatological Academy»

*Currently, one of the promising non-invasive diagnostic methods in pulmonology, cardiology, endocrinology, oncology is the study of the exhaled breath condensate (EBC). A significant limitation of the study of EBC in clinical practice is the absence of generally accepted standards for its collection and study of the content of biological substances containing ultra low concentrations in it. The growing scientific and practical interest in this issue led to the organization of the target group American Thoracic Society and the European Respiratory Society and the development of recommendations for the collection of condensate. We have studied and analyzed the recommendations of ATS / ERS and developed an algorithm for sampling EBC.*

**Key words:** exhaled breath condensate, ATS/ERS recommendations biomarkers, condensate collection algorithm.

Non-invasive diagnostics is one of the important directions in modern medicine. The relevance of the problem is due to the impact minimization methods of collecting the material for analysis, when a patient does not have to experience pain, physical and emotional discomfort. It is also due to the safety of the study because it excludes the possibility to contract blood-borne or tool-borne infections. Non-invasive diagnostic methods can be used, on the one hand, in outpatient settings, which ensures their widespread use; on the other hand - in patients at the intensive care unit, because the severity of patient's condition is not a contraindication for their conducting. Currently, the study of exhaled breath condensate (EBC) is one of the promising non-invasive methods in pulmonology, cardiology, endocrinology and oncology. EBC contains numerous components, the main of which is exhaled condensed liquid: it constitutes 99% of the volume of EBC. Only a small fraction of it contains non-volatile molecules that can be hydrophilic and hydrophobic. During condensation, volatile, water-soluble particles are adsorbed along with the liquid. EBC does not contain cells, but there are many different biologically active substances that are produced by the cellular elements of the airway mucosa, which has already been substantiated [1], [2], [3].

A significant limitation of EBC study in clinical practice is the absence of generally accepted standards for its collection and examination of its content of biological substances, which contain ultra-low concentrations.

The main ways to solve the problem are standardization and development of unified approaches to the collection and analysis of EBC. On resolving these major issues, we will obtain more evidence and effectiveness in the application of this diagnostic method. A burst of scientific and practical interest to this issue led to organization of the target group of the American Thoracic Society and the European Respiratory Society in 2001, with the aim of development of recommendations for condensate collecting, which were published in 2005 [1] with revisions and amendments in 2012 [3] and 2013 [4]. At this stage, the existing problems are solved by following the ATS/ERS recommendations in EBC:

- standardization of terminology;
- studying the composition of EBC;
- description of the procedure for condensate collecting.

The result of implementing the ATS/ERS recommendations is the further development in this direction of non-invasive diagnostics of diseases:

- serial production of special condensate collection devices such as EcoScreen® (Jaeger Tonnies Hoechberg, Germany); R-Tube® (Respiratory Research, Inc., USA), and accessories - mouthpieces, saliva collecting frame, nasal clamps, and others.

- the commonly accepted conditions for carrying out the procedure of collecting EBC have been formulated: the time of condensate collecting, the duration of the procedure, the amount of condensate, the temperature of cooling during the collection of condensate and the temperature for storage of samples, the intensity of exhalation, the maneuver of exhalation, control of contamination with saliva, body position during the procedure, preparing the patient for the procedure (rinsing the mouth, abstinence from food and smoking).

- new substrates have been isolated in EBC: interleukins, cytokines, chemokines, eicosanoids, erythropoietin, adenosine, DNA and others.

Analyzing the modern recommendations, we developed the algorithm of the procedure for EBC collecting.

Specifications:

1. In order to collect EBC, it is permissible to use commercial devices or self-made products. The best way to carry out the procedure is to use commercial models of condensers, since this allows us to avoid many problems. Commercial models such as EcoScreen®, Jaeger, Anacon have an unidirectional valve that prevents accidental cooling of the air from the condenser during inhalation, which is important for preventing mixing of air. R-Tube® is individual, it does not need to be disinfected. They exclude the possibility of the release of detergent residue into EBC, which also affects the composition of condensate. The device must have a salivary collecting frame with a mouthpiece, as it is important to control continuously the contamination of the EBC with saliva, as it has already been proven that contamination with saliva may affect the level of various mediators in EBC. At the same time, the use of filter is not recommended because it can become a trap for molecules contained in exhaled air. As a cooling component, one can use ice, ethanol, liquid nitrogen, and frozen metal tubes.

In the case of using a self-made device, it is necessary to specify the detailed information about the appliance (saliva collecting frame, its resistance, material of

\* To cite this English version: Ya.M. Avramenko, O.A. Borzykh. Methodical approaches to collecting and analyzing the exhaled breath condensate // *Problemy ekologii ta medytsyny*. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 59-61.

the condensation surface, cooling method, condenser temperature, and their stability during the assembly period).

The device is assembled before the procedure begins.

2. Preparing the patient for the procedure:

- The study should be conducted in the morning (8.00-12.00), on an empty stomach or at least 8 hours after a light breakfast. When re-examining on another day, it is preferable to conduct the study at the same time of day.

- The patient must not smoke and drink alcohol within 24 hours [6].

- The patient must not take medications 12 hours before the procedure.

- Before launching the study, it is necessary to comprehensively explain the patient the method of conducting, to instruct the patient, and in case of need (for children, elderly patients) to demonstrate the procedure, paying attention to the intensity, duration of exhalation, periods of rest, control of contamination with saliva).

- It is necessary to carry out the study at rest, at least 30 minutes after physical exertion. Before study, the patient must rest for 10-15 minutes.

- One should conduct research in clothing that does not compress the thorax and the upper respiratory tract. It is required to remove any foreign objects (dentures, chewing gum, etc.) from the oral cavity.

- The patient is offered to carefully remove the traces of possible contamination (saliva, cosmetics, food remains) from the area of lips with a gauze cloth dipped in distilled water, and then is asked to rinse the mouth for three times with warm boiled water.

3. Condensate collection:

- Put the patient in a comfortable sitting position, in the calm atmosphere, with the feeling of maximum comfort.

- Conduct the study with the use of a nasal clamp during exhalation, the clamp is removed by the patient at each inhalation through the nose.

- During the study, the patient must tightly hold a mouthpiece with his/her lips, but must not close the mouthpiece with the tongue or teeth during exhalation.

- On the average, 10–15 minutes are required to collect 1-2 ml of condensate, under condition of the correct, regular, not too slow exhalation through the mouth, inhalation only through the nose, without exhausting a patient. When collecting condensate, the flow of exhaled air is always streamed directly to the chilled chamber where it is collected in the form of condensate.

- If necessary, a re-examination can be done after a rest in 30 minutes or postponed to another day. \*

4. Storage and analysis of condensate

- Samples of CVD should be frozen immediately after collection and stored at -70°C until the analyzes. If it is planned to measure more than one marker, samples should be collected in different test tubes, in order to avoid further freezing / defrost cycles that can destroy biological substances.

- Most mediators that are detected in EBC are contained in ultra-low concentrations, and the measured values have a high variability. The potential solution to this problem is concentration of samples, which allows us to increase the sensitivity and reproducibility of the method. For this purpose, lyophilization, resuspension and vacuum evaporation may be used, depending on the nature of the biomarkers to be studied.

*Note \* There are currently no studies showing the effect of respiratory depression, the effect of cough (both random and induced) during the procedure on the concentration of biomarkers in EBC. The volume of EBC does not depend on the functional parameters of the lungs, including the forced expiratory volume in 1 second (FEV1) and forced vital capacity of the lungs (FVCL) in healthy subjects and patients with broncho-obstructive disease. There is currently no data indicating a change in the concentration of markers in EBC when changing the airway gauge, there is no data on the potential impact of race, gender and body position during the collection of EBC. \**

### Conclusions

1. Currently, due to the lack of national recommendations for the EBC in Ukraine, it is necessary to follow the ATS / ERS recommendations [1].

2. Applying the above-mentioned algorithm, developed on the basis of the ATS / ERS recommendations, one can significantly enhance the implementation of this method for study in different fields of medicine and standardization of biomarkers analysis.

### References

1. Horvath I, Hunt J., Barnes PJ et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur. Respir J.* 2005; 26: 523-548.
2. Liang Y, Yeligar SM, Brown LAS Exhaled breath condensate: a promising source for biomarkers of lung disease. *The Scientific World J.* 2012. Article ID 217518: 7 p. <http://dx.doi.org/10.1100/2012/217518>
3. Ahmadzai H, Huang S, Hettiarachchi R, Lin JL, Thomas PS, Zhang Q. Exhaled breath condensate: a comprehensive update. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51(7): 1343-1361.
4. Hoffmeyer F, Raulf-Heimsoth M, Brüning T. Exhaled breath condensate and airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin. Immunol.* 2009; 9 (1): 16-22.
5. Scheideler L, Manke HG, Schwulera U, Inacker O, Hammerle H. Detection of nonvolatile macromolecules in breath. A possible diagnostic tool? *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 778-784.
6. Garey K, Neuhauser MM, Robbins RA, Danziger LH, Rubinstein I. Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers. *Chest.* 2004; 125: 22-26.
7. Dekhuijzen PN, Aben KKH, Dekker I, Aarts LP, Wielders PL, van Herwaarden CL. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154: 813-816.
8. Kasielski M, Nowak D. Long-term administration of N-acetylcysteine decreases hydrogen peroxide exhalation in subjects with chronic obstructive pulmonary disease. *Resp Med.* 2001; 95: 448-456.
9. Ho LP, Faccenda J, Innes JA, Greening AP. Expired hydrogen peroxide in the breath condensate of cystic fibrosis patients. *Eur Respir J.* 1999; 13: 103-106.
10. Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, Foschino-Barbara MP, Gramiccioni E, Barnes PJ. Increased 8- isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients. *Chest.* 2002; 122: 1162-1167.
11. Shahid SK, Kharitonov SA, Wilson NM, Bush A, Barnes PJ. Increased interleukin-4 and reduced interferon-in in exhaled breath condensate of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165: 1290-1293.
12. Carpagnano GE, Resta O, Foschino-Brabar MP, Gramiccioni E, Carpagnano F. Interleukin-6 is increased in the breath condensate of patients with non-small cell lung cancer. *Int J Biol Markers.* 2002; 17: 141-145.
13. Bucchioni E, Kharitonov SA, Allegra L, Barnes PL. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate in patients with COPD. *Respir Med.* 2003; 97: 1299-1302.

14. Carpagnano GE, Kharitonov SA, Foschino-Barbaro MP, Resta O, Gramiccioni E, Barnes PJ. Increased inflammatory markers in the exhaled breath condensate of cigarette smokers. *Eur Respir J.* 2003; 21: 589-593.
15. McRae K, De Perrot M, Fischer S, Waddell TK, Liu M, Keshavjee S. Detection of IL-10 in the exhaled breath condensate, plasma and tissue during ischemia reperfusion injury in experimental lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2001; 20: 184.
16. Shi T, Su D, Liu T, Tang K, Camp DG, Qian WJ, Smith RD. Advancing the sensitivity of selected reaction monitoring-based targeted quantitative proteomics. *Proteomics.* 2012; 12(8): 1074-1092.
17. Brand J, Haslberger T, Zolg W, Pestlin G, Palme S. Depletion efficiency and recovery of trace markers from a multiparameter immunodepletion column. *Proteomics.* 2006; 6(11): 3236-3242.

*Матеріал надійшов до редакції 06.12.2017*

© A.M. Yelins'ka, V.O.Kostenko  
UDC 577.112+577.115:(616.314.17:599.323.4)

## LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN PERIODONTAL TISSUES UNDER THE ACTION OF LOCAL PATHOGENIC FACTOR ON GUMS IN RATS EXPOSED TO MODELED SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE\*

A.M. Yelins'ka, V.O.Kostenko

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

*The purpose of the work was to study the state of lipid peroxidation (LPO) and antioxidant system in periodontal tissues under the influence of the local pathogenic factor on the gums in rats against modeled systemic inflammatory response (SIR) reproduction. The study was carried out on 40 white male rats of the Wistar line weighing 180-220 g, divided into 4 groups: the 1<sup>st</sup> included intact animals, the 2<sup>nd</sup> was made up by animals subjected to SIR modeling, the 3<sup>rd</sup> included animals, which were subjected to modeled acute gingivitis by applying 5% sodium hydroxide (NaOH) solution onto their gums, and the 4<sup>th</sup> group involved rats with acute gingivitis induced by 5% NaOH solution against modeled SIR. SIR was induced by intraperitoneal administration of lipopolysaccharide Salmonella typhi (pyrogenalum) in a dose that stimulated rise in temperature by 1.5 °C. During the following seven weeks of the experiment, rats were given 4 MPD / kg of body weight once a week. To simulate the action of local pathogenic factor affecting the gums we used the modeled acute gingivitis. For this purpose we irrigated the rats' gums with 5% NaOH solution through 10 s. The simulation of SIR is accompanied by the development of decompensated LPO in periodontal tissues, by the decrease in their antioxidant potential as well as the activity of superoxide dismutase and catalase. The application of 5% NaOH solution onto the gums is accompanied by the development of compensated LPO in periodontal tissues with an increase in the activity of superoxide dismutase and catalase. The application of 5% NaOH solution onto the gums against modeled SIR causes an increase in the production of by-products of LPO in periodontal tissues and reduced their antioxidant potential, as well as the activity of superoxide dismutase and catalase compared to separate simulations of SIR and acute gingivitis.*

**Key words:** signal systemic inflammatory response, acute gingivitis, lipid peroxidation, antioxidant system, periodontium.

*Метою роботи було з'ясування стану пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи у тканинах пародонта щурів за умов дії місцевого патогенного чинника на ясна щурів на тлі відтворення системної запальної відповіді (СЗВ). Дослідження були проведені на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, розподілених на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – після відтворення СЗВ, 3-тя – після аплікації на ясна 5% розчину гідроксиду натрію (NaOH), 4-та – після аплікації на ясна 5% розчину NaOH на тлі відтвореної СЗВ. Останню відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду Salmonella typhi (пірогенал) у дозі, яка сприяла у щурів підвищенню температури на 1,5°C. Для відтворення дії місцевого патогенного чинника на ясна використовували модель гострого гінгівіту. Щурам на ясна наносили 5% розчин NaOH шляхом зрошення протягом 10 с. Відтворення СЗВ супроводжується розвитком декомпенсованого ПОЛ у м'яких тканинах пародонта, зниженням у них антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази та каталази. Аплікація на ясна 5% розчину NaOH супроводжується розвитком компенсованого ПОЛ у тканинах пародонта зі збільшенням активності супероксиддисмутази та каталази. Нанесення на ясна 5% розчину NaOH на тлі відтвореної СЗВ викликає збільшення вторинних продуктів ПОЛ у гомогенаті м'яких тканин пародонта та зменшення у них антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази та каталази порівняно з окремим відтворенням СЗВ та гострого гінгівіту.*

**Ключові слова:** системна запальна відповідь, гострий гінгівіт, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, пародонт.

### Introduction

Numerous literary reports have convincingly demonstrated the role of derangements of oxidative metabolism in the pathogenesis of stress, toxic, infectious and neurodystrophic affection of periodontal lesions [2, 3].

We have shown an increase in the production of superoxide anion radicals in periodontium tissues by mitochondrial and NADPH-dependent electron transport chains of microsomes and nitric oxide synthase (NOS) as well as by leukocyte NADPH oxidase in systemic inflammatory response (SIR). There has been revealed interfering the mechanism of autoregulation of the physiological nitric oxide concentration in the periodontium that leads to simultaneous increase in nitric oxide formation through

the NOS and nitrate / nitrite reductase mechanisms, resulting in the development of oxidative-nitrosative stress with rising peroxynitrite concentration [16].

Reactive oxygen and nitrogen species (ROS / RNS) are known to initiate lipid peroxidation (LPO), which results in the disintegration in the connective tissues of periodontium and the inhibition of collagen synthesis [12].

Thus, free radical processes are a pathogenetic chain that provides the connection between systemic somatic pathology and the state of the oral organs and tissues. Most of manifestations relating to the complex of metabolic disorders caused by systemic inflammation are closely interwoven with the leading pathogenetic links in

\* To cite this English version: A.M. Yelins'ka, V.O.Kostenko. Lipid peroxidation and antioxidant protection in periodontal tissues under the action of local pathogenic factor on gums in rats exposed to modeled systemic inflammatory response // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 62–64.

the development and progression of chronic periodontitis [4, 10, 15].

However, the state of metabolic processes in periodontium under the conditions of combined action of general (systemic inflammation) and local pathogenic factors still remains unexplored.

The purpose of the work was to study the state of LPO and antioxidant system in periodontal tissues of rats under the influence of the local pathogenic factor (5% sodium hydroxide solution) on the gums in rats against modeled SIR reproduction.

### Materials and methods

The study was carried out on 40 white male rats of the Wistar line weighing 180-220 g, divided into 4 groups: the 1<sup>st</sup> included intact animals, the 2<sup>nd</sup> was made up by animals subjected to SIR modeling, the 3<sup>rd</sup> included animals, which were subjected to modeled acute gingivitis by applying 5% sodium hydroxide (NaOH) solution onto their gums, and the 4<sup>th</sup> group involved rats with acute gingivitis induced by 5% NaOH solution against modeled SIR.

SIR was induced by intraperitoneal administration of lipopolysaccharide (LPS) *Salmonella typhi* (pyrogenalium) in a dose that stimulated rise in temperature by 1.5°C according to the scheme [16]: during the first week, 4 minimum pyrogenic doses (MPD) of 0.4 µg/kg of rat mass were administered 3 times a week. During the following seven weeks of the experiment, rats were given 4 MPD/kg of body weight once a week.

To simulate the action of local pathogenic factor affecting the gums we used the modeled acute gingivitis [6]. For this purpose we irrigated the rats' gums with 5% NaOH solution through 10 s.

The research was guided by the principles of biomedical ethics. The animals were decapitated with ethe-

real anesthesia in three days after the simulation of the experimental models had been stopped. Soft tissues of periodontium were the objects of the study.

The level of LPO in the tissues was evaluated by the formation of a stained trimethine complex during the reaction of thiobarbituric acid (TBA) and TBA-active products before and after 1.5-hour incubation of homogenate in the prooxidant iron-ascorbate buffer solution [13]. The activity of the antioxidant system was assessed by increasing in the concentration of TBA active products during 1.5 hour incubation in iron-ascorbate buffer solution, as well as by the activity of antioxidant enzymes – superoxide dismutase (SOD) and catalase [13].

The findings obtained were statistically processed. To verify the normality distribution, the calculation of the Shapiro-Wilk criterion was applied. If they corresponded to the normal distribution, then the Student's t-test was used to compare independent samples. When the results ranges were not subject to normal distribution, statistical processing was performed using a nonparametric method, the Mann-Whitney test. Statistical calculations were performed using the "StatisticSoft 6.0" program.

### Results and discussion

SIR modeling led to significant increasing of concentration of compounds reacting with TBA before and after incubation of homogenate in the prooxidant iron-ascorbate buffer solution – by 93.8% (p<0.01) and 97.4% (p<0.001) respectively (See table). The increment in these compounds for incubation time nearly doubled (in 2.04 times, p<0.01) that is the evidence of considerable decrease in antioxidant potential and the development of decompensated LPO reduction in the periodontal soft tissues. This is also confirmed by a decrease in the activity of SOD and catalase – by 34.8% (p<0.01) and 46.4% (p<0.001) respectively.

Table  
Indicators of LPO and antioxidant system in periodontal tissues of rats exposed to the action of the local pathogenic factor against modeled SIR (M±m, n=40)

Groups of the animals studied	Concentration of compounds reacting with thiobarbituric acid µmol/kg			Antioxidant enzymes activity	
	Before incubation	After incubation	Increment for incubation time	SOD, act. un.	Catalase, µkat/g
Intact animals	20.9±3.8	34.3±2.5	13.4±1.8	0.23±0.02	0.28±0.02
Animals with SIR	40.5±3.0 *	67.7±4.4 *	27.3±2.8 *	0.15±0.01 *	0.15±0.01 *
Animals after NaOH application	34.2±3.0 *	51.7±1.7 *	17.5±3.4	0.32±0.02 *	0.36±0.01 *
Animals with SIR after NaOH application	54.6±3.2 */**/***	86.2±4.7 */**/***	31.5±4.1 */***	0.08±0.01 */**/***	0.12±0.02 */***

Note: \* – p<0.05 compared with values of intact rats,  
\*\* – p<0.05 compared with values of the 2<sup>nd</sup> group,  
\*\*\* – p<0.05 compared with values of the 3<sup>rd</sup> group.

The application of 5% NaOH solution onto the gums was accompanied with the increase in the concentration of compounds reacting with TBA products before and after incubation of homogenate in the prooxidant iron-ascorbate buffer solution – by 63.6% (p<0.05) and 50.7% (p<0.001) respectively. The increment in these compounds through incubation time was unchanged. This suggests the development of compensated LPO in the soft periodontal tissues. Under this condition the activity of both SOD and catalase was growing by 39.1% (p<0.02) and 28.6% (p<0.01) respectively.

The application of 5% NaOH solution onto the gums against SIR led to significant increasing of concentration of compounds reacting with TBA products before incubation of homogenate in the prooxidant iron-ascorbate buffer solution that surpassed the results in the 2<sup>nd</sup> and

the 3<sup>rd</sup> groups by 34.8% (p<0.02) and 59.6% (p<0.01), respectively. The concentration of compounds reacting with TBA products after incubation grew too by 27.3% (p<0.05) and 66.7% (p<0.001) compared with the results in the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> groups. The increment of these compounds for incubation time by 80.0% (p<0.05) surpassed the relevant result in the 3<sup>rd</sup> group. This points our much higher LPO level in periodontal tissues. This is also proven by the lowering SOD activity by 46.7% (p<0.01) and 75.0% (p<0.001) compared with the findings in the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> groups, as well as by decreased catalase activity by 66.7% (p<0.001) compared with the findings of the 3<sup>rd</sup> group.

In recent years, the development of SIR has been associated with the permanent activation of certain transcription factors (NF-κB, AP-1) [5, 11]. NF-κB activation is

also an important causative factor of the pathogenesis of free-radical pathology of periodontium [1, 8] and disintegration of its connective tissues [7]. The consequence is the expression of genes of inflammatory cytokines, inducible nitric oxide synthase, metalloproteinases, cellular molecules adhesion, cyclooxygenase-2, etc., capable of inducing ROS / RNS generation [14]. The development of oxidative / nitrosative stress in periodontium tissues has also been evidenced by our previous studies [16].

Thus, the preconditioning of the body by the introduction of LPS that is accompanied by the SIR development creates the conditions for more considerable exhaustion of the antioxidant system in the periodontal tissues under local affection with chemical agent (5% NaOH solution). This causes even greater activation of free radical processes, with the formation of a significant concentration of secondary LPO products. Under these conditions, the antioxidant system ceases to respond adequately, resulting in the development of the periodontal involution, the formation of conditions for virtually unobstructed spread of the inflammatory process, destruction of collagen fibers and resorption of the alveolar process of the jaws [7, 9, 12].

### Acknowledgements

The authors would like to thank Viktoriia Kostenko (Department of Foreign Languages, Latin Language and Medical Terminology) for her support in translating this article into English.

### Conclusions

1. The simulation of systemic inflammatory response is accompanied by the development of decompensated lipid peroxidation in periodontal tissues, by the decrease in their antioxidant potential as well as the activity of superoxide dismutase and catalase.

2. The application of 5% NaOH solution onto the gums (model of acute gingivitis) is accompanied by the development of compensated lipid peroxidation in periodontal tissues with an increase in the activity of superoxide dismutase and catalase.

3. The application of 5% NaOH solution onto the gums against modeled systemic inflammatory response causes an increase in the production of by-products of lipid peroxidation in periodontal tissues and reduced their antioxidant potential, as well as the activity of superoxide dismutase and catalase compared to separate simulations of SIR and acute gingivitis.

### References

1. Bogdanov A.V. Effect of inhibitor of nuclear translocation of transcription factor  $\kappa$ B on oxidative metabolism in periodontal tissues of rats under excessive combined sodium nitrate and fluoride intake / A.V. Bogdanov, V.A. Kostenko // Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visn. Ukrain'skoyi med. stomatol. akademiyi. – 2017. – T.17, №1. – S. 217-219. [Ukrainian].

2. Boşca A.B. Role of nitro-oxidative stress in the pathogenesis of experimental rat periodontitis / A.B. Boşca, V. Miclăuş, A. Ilea [et al.] // Cl. Med. – 2016. – V.89, №1. – P. 150-159.
3. Dahiya P. Reactive oxygen species in periodontitis / P. Dahiya, R. Kamal, R. Gupta [et al.] // J. Indian. Soc. Periodontol. – 2013. – V. 17, №4. – P. 411-416.
4. Gurav A.N. The association of periodontitis and metabolic syndrome / A.N. Gurav // Dent. Res. J. (Isfahan). – 2014. – V. 11, № 1. – P. 1-10.
5. Kaidashev I.P. NF- $\kappa$ B-signaling as a basis for systemic inflammation, insulinresistance, lipotoxicity, diabetes mellitus type 2 and atherosclerosis / I.P. Kaidashev // Mezhdunar. Endokr. Zh. – 2011. – T. 3, №35. – S. 35–38 [Russian].
6. Levitskij A.P. The experimental methods of gingivitis simulation / A.P. Levitskij, O.V. Den'ga1, O.A. Makarenko [et al.] // Innovatsiyi v stomatolohiyi. – 2013. – №1. – S. 2-6. [Russian].
7. Ljashenko L.I. The role of NF- $\kappa$ B-mediated action of NO-synthases in disorganization of periodontal connective tissue under modeled metabolic syndrome / L.I. Ljashenko, V.A. Kostenko // Zahal'na patolohiya ta patolohichna fiziolohiya. – 2013. – T.8, №3. – S. 53-57. [Ukrainian].
8. Ljashenko L.I. The role of transcription nuclear factor  $\kappa$ B in mechanisms of free radical processes impairment and connective tissue disorganization in periodontium under modeled metabolic syndrome / L.I. Ljashenko, S.V. Denisenko, V.A. Kostenko // Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visn. Ukrain'skoyi med. stomatol. akademiyi. – 2014. – T.14, №1. – S. 97–100. [Ukrainian].
9. Neporada K.S. Development of proteolytic imbalance in the tissues of the oral cavity / K.S. Neporada, T.V. Berehova, A.A. Sukhomlyn [et al.] // Medychnyy forum. – 2017. – № 12 (12). – S. 103–106. [Ukrainian].
10. Prodanchuk A.I. Periodontopathy and somatic pathology / A.I. Prodanchuk, I.D. Kiiun, M.O. Kroitor // Buk. Med. Visn. – 2012. – T.16, №2. – S. 164-168. [Ukrainian].
11. Rasin M.S. The role of nuclear transcription factors in modern syntropy internal pathology (review) / M.S. Rasin, I.P. Kaidashev // Ukr. Med. Chasop. – 2014. – № 1 (99). – S. 17-21. [Russian].
12. Tarasenko L.M. Stress and periodontum / L.M. Tarasenko, T.A. Petrushanko. – Poltava, 1999. – 189 s. [Russian].
13. The clinical and experimental methods in medicine / [L.V. Berkalo, O.V. Bobovych, N.A. Bobrova et al.] ; I.P. Kaidashev (ed.). – Poltava: Polimet, 2003. – 320 s. [Ukrainian].
14. Tornatore L. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A.K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // Trends Cell Biol. – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557-566.
15. Vesnina L.E. Features of NF- $\kappa$ B-mediated signal transduction and development of systemic inflammation in patients with diseases of internal organs are determined by microbial factor and individual reactivity of the body (review of own research findings) / L.E. Vesnina, O.V. Izmailova, O.A. Shlykova, I.P. Kaidashev // Problemy ekologiyi ta medytsyny. – 2015. – V. 19, № 3-4. – P. 30-37.
16. Yelins'ka A.M. Sources of production of reactive oxygen and nitrogen species in tissues of periodontium and salivary glands of rats under modeled systemic inflammation / Yelins'ka, O.O. Shvaykovs'ka, V.O. Kostenko // Problemy ekologiyi ta medytsyny. – 2017. – V. 21, № 3-4. – P. 51-54.

Матеріал надійшов до редакції 16.11.2017



© I. L. Kolisnyk, I. Yu. Bagmut, A.V. Titkova, Yu. K. Rezunenko, S. N. Filipchenko

## THE DAMAGE OF MEMBRANES STRUCTURE OF HEPATOCYTES IN RATS DURING FLUORIDE INTOXICATION\*

I.L. Kolisnyk, I.Yu. Bagmut, A.V. Titkova, Yu.K. Rezunenko,\* S.N. Filipchenko

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (Kharkiv, Ukraine)

Kharkiv National Medical University (Kharkiv, Ukraine)

*The study was performed at the Department of Clinical Pathophysiology, Topographical Anatomy and Operative Surgery at Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education according to the research project "Radiotoxins' pathochemical mechanisms on the body and methods of early diagnostics and correction" 0117U000589.*

*We studied the effect of small subtoxic doses of sodium fluoride on the phospholipid composition of hepatocyte membranes of 30 rats of the Wistar line in the subacute experiment. The analysis of the obtained results allows us to confirm the disruption of the quantitative content of general and individual phospholipids in lipid extracts of hepatocyte membranes, depending on the dose and duration of xenobiotic activity. The calculation of the ratio of the amount of rapidly oxidizing phospholipid fractions (phosphatidylserine, phosphatidyl ethanolamine, phosphatidylinositol) to the sum of severely oxidizing phospholipid fractions (sphingomyelin, phosphatidylcholine, lysophosphatidylcholine) with sodium fluoride at a dose of 1/10 LD<sub>50</sub> indicates a decrease by 1,4 and 2,3 times respectively on the 30th and 60th day of the experiment, reflecting the depletion of the adaptive capacity of the liver cells. In case of sodium fluoride at a dose of 1/100 LD<sub>50</sub>, this factor increases by 1.2 times on the 30th day of the experiment, and on the 60th day it decreases by 1.6 times, which reflects the stresses of the adaptive potential with its subsequent breakdown.*

**Key words:** sodium fluoride, phospholipid composition of hepatocyte membranes, phospholipid fractions, rats of Wistar line.

*На 30 щурах популяції Вістар досліджено в підгострому досліді дію малих субтоксичних доз фториду натрію на фосфоліпідний склад мембран гепатоцитів. Аналіз одержаних результатів дозволяє стверджувати про порушення кількісного вмісту загальних та індивідуальних фосфоліпідів у ліпідних екстрактах мембран гепатоцитів в залежності від дози та тривалості дії ксенобіотика. Обчислення коефіцієнта співвідношення суми швидко окислювальних фосфоліпідних фракцій (фосфатидилсерину, фосфатидилетаноламіну, фосфатидилінозитолу) до суми важко окислювальних фосфоліпідних фракцій (сфінгом'єліну, фосфатидилхоліну, лізофосфатидилхоліну) при дії фториду натрію у дозі 1/10 LD<sub>50</sub> свідчить про його зниження в 1,4 та 2,3 рази відповідно на 30 – ту та 60 – ту добу експерименту, що відображує виснаження адаптаційного потенціалу клітин печінки. У випадку дії фториду натрію у дозі 1/100 LD<sub>50</sub> цей коефіцієнт на 30 – ту добу експерименту збільшується в 1,2 раза, а на 60 – ту добу знижується в 1,6 раза, що відображує напруження адаптаційного потенціалу з наступним його зривом.*

**Ключові слова:** фторид натрію, фосфоліпідний склад мембран гепатоцитів, фосфоліпідні фракції, щури популяції Вістар.

### Introduction

Relevance of the study of fluorine and its derivatives is due, above all, to the lack of in – depth evaluation of their biological activity. In particular, research papers are mainly devoted to the study of some state organs and body systems that determine the formation of pathological processes. For a better understanding of the pathogenic mechanisms of action of fluoride and its derivatives, it is appropriate to conduct a comprehensive approach to the study of the functional state of the organism as a single self – regulating system.

As a mechanism that destabilizes cell membrane, lipid bilayer may render an excessive activity of LPO against the background of antioxidant reserves. The result is usually a change of physical and chemical properties of biomembranes and membrane – active enzymes and receptors that provide metabolic, transport, regulatory cell function. Given the preliminary results of studies on intensification of free radical processes and lipid peroxidation against the background of decreased activity of antioxidant system in the liver of experimental animals under long – term sodium fluoride (SF), especially at a

dose of 1/10 LD<sub>50</sub>, the assessed phospholipid composition of hepatocytes' membranes has been represented.

### Material and methods

Studies were conducted on mature Wistar rats weighing 18 –220 line g, which were held in the hospital vivarium. Rats were subjected to oral exposure using a probe and aqueous solutions of sodium fluoride (SF) once daily for 60 days at doses of 1/10, 1/100 and 1/1000 LD<sub>50</sub>, which was respectively 20 mg/kg, 2 mg/kg and 0.2 mg/kg body weight (SF average lethal dose for rats received orally, is 200 mg/kg). The animals of the control group were injected with the appropriate amounts of drinking water (n=10). Research conducted indicators on 10, 20, 30, 50, 60 days after launching the experiment (n=20). Each group included 10 animals (N=30). Animals were euthanized by decapitation with guillotine knife and pre – anesthetic thiopental sodium 50 mg/kg.

To study of phospholipid composition in extraction of hepatocytes lipids was performed with a mixture of chloroform – methanol at a ratio of 1:2 followed by evaporation in a stream of dry nitrogen separation of individual phospholipid fractions was performed by micro – thin layer chromatography in a solvent system: hexane: di-

\* To cite this English version: I. L. Kolisnyk, I. Yu. Bagmut, A.V. Titkova, Yu. K. Rezunenko, S. N. Filipchenko. The damage of membranes structure of hepatocytes in rats during fluoride intoxication // *Problemy ekologii ta medytsyny*. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 65–66.

ethyl ether: acetic acid (73:25:2 by volume) [1]. Identification of phospholipids were conducted by standard solutions and by specific reactions. Quantitative overall and individual content in the lipid extracts were evaluated [2]. Value phospholipid fractions were calculated as a percentage of phosphorus phospholipid fractions of each phosphorus to total lipids taken as 100%.

Statistical analysis of the results was carried out using a computer application package for the processing of statistical information Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., USA).

### Results and discussion

On 30th day of SF oral administration to rats at a dose of 1 SF/10LD<sub>50</sub> there was a significant ( $p < 0.001$ ) reduction in regard to easy oxidation phospholipid fractions by 36% when contrasted to the comparison level of phosphatidylethanolamine (PEA) against the background of improbable reduction ( $p = 0.059$ ) by 22% of content of phosphatidylinositol (PI) and increase ( $p = 0.762$ ) by 7% of phosphatidylserin (PS). As to the hard oxidation fractions of phospholipids, in this time of observation we recorded statistically significant ( $p < 0.001$ ) as contrasted to comparisons enhance of phosphatidylcholine (PH) 35% and lysophosphatidylcholine (LPH) by 92% while reducing sphingomyelin (SM) by 41%.

On the 60th day of the experiment, the effect of SF in a dose of 1/10 LD<sub>50</sub> resulted in significant when contrasted to the comparison group decrease ( $p < 0.001$ ) in rats' hepatocytes content of PEA and PI respectively by 60 and 57%. SF level tended to false ( $p = 0.059$ ) reduction of 19%. At the time of observation, we also found a significant increase ( $p < 0.001$ ) of LPH and PH by 122% and 52%. Content of SM under the action of SF in a dose of 1/10 LD<sub>50</sub> on the 60th day of exposure, statistically significant when contrasted to the comparison, was reduced by 62%.

SF oral administration to rats at a dose 1/100 LD<sub>50</sub> was accompanied by other changes in the dynamics of phospholipid composition of hepatocytes. On the 30<sup>th</sup> day of observation of easy oxidation fractions, there was a statistically significant ( $p = 0.004$ ) increase as contrasted to the comparison found only in PHI – 42%, while improving PEA by 21% was unlikely ( $p = 0.104$ ). Content of SF was practically unchanged during this term. For severe oxidative phospholipid fractions on the 30th day of dose administration SF 1/100 LD<sub>50</sub> we discovered a statistically significant ( $p < 0.001$ ) increase of only LPH (43%). For CM and PH, we observed probable changes as relative to the comparison group.

On the 60th day, the action SF in 1/100 LD<sub>50</sub> dose resulted in a statistically significant ( $p < 0.001$ ) reduction of PEA and PI by 40–48%. SF level was practically unchanged and equal to the value of comparison. SF in a dose 1/100 LD<sub>50</sub> caused this increase in observation period ( $p < 0.001$ ) and content of SF LPH respectively by 26 and 47%, and reduction ( $p < 0.001$ ) of SM on average by 40%.

Overall analysis of the results indicates a reduction of easy oxidation (PEA, PI) phospholipid membrane fractions of rats' hepatocytes with an increase of heavy oxidation (PH, LPH) in case of prolonged oral administration of SF in a dose of 1/10 LD<sub>50</sub>. On the 60th day of SF toxification of rats in this dose, we determined the opposite dynamics change: reducing oxidative easy fractions (PEA, PI) against the background of increasing oxidative hard fractions (PH, LPH). These changes are probably the result of the detected increase in free radical processes and lipid peroxidation by prolonged exposure SF. The results coincide with literature data. Thus, it is proved that under current active free radical processes, the number of phospholipids, which are composed of polyunsaturated fatty acids – SF, PI, PEA [3] are most dramatically reduced. Intensification of lipid peroxida-

tion is usually accompanied by significant changes in the composition and degree of oxidation of membrane phospholipids, thereby reducing the activity of enzyme systems and phospholipide-dependent leads to disruption of the integrity of the cell membrane lipid bilayer [4, 5.8]. We should emphasize the significant increase in the long – term LPH rats' toxification with SF, which has a strong cytolytic activity. Particular attention should be paid to the changing content of CM – one of the most resistant to peroxidation phospholipide fractions [6 – 9]. For SF conditions of prolonged exposure, especially at a dose 1/10 DL<sub>50</sub> in rats we determined a gradual reduction of SM in the membranes of hepatocytes that under the literature suggests chronic process of free radical oxidation and lipid peroxidation [10].

Lipid molecules are important structural and functional components of cell membranes; they regulate mobility and activity of membrane proteins, identifying potential adaptation of cells [11].

### Conclusion

Calculating coefficient ratio of easily oxidizing phospholipid fractions (SF, PEA, PI) on the amount of oxidative hard PL fractions (SM PH, LPH) by the action of SF in a dose of 1/10 LD<sub>50</sub> provides evidence of its decrease by 1.4 and 2, 3 times respectively on the 30th and 60th day, reflecting the depletion of adaptive capacity of liver cells. In case of action SF 1/100 LD<sub>50</sub> dose of this factor on the 30th day of the experiment, the reflecting tensions of adaptive capacity with subsequent breakdown increased by 1.2 times, and on the 60th day it reduced by 1.6 times.

### References

1. Cates M, Technique of lipydology. – Moscow: Mir, 1975. – 322 p.
2. Brockhuse RM, Phospholipids structure of erythrocytes and hepatocytes: Clin. Biochem, 1974, Vol. 14, № 3: P. 157 – 158.
3. Биомембранология / А. А. Болдырев, Е. И. Кяйвяряйнен, В. А. Илюха. – Петрозаводск : КарНЦ РАН, 2006. – 226 с.
4. Hubskey YI, Cells Death: free radicals, necrosis, apoptosis. – Vinnitsa: New Book, 2015. –360 p.
5. Novykov KN, Kotelevtsev SV, KozlovJP, Free radical processes in systems with biologically under the impact factors on environment. – M.: mineral, 2011. – 199 p.
6. Pamplona R., Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: A causal role in aging and longevity: Biochimica et Biophysica Acta, 2008, Vol. 1777, Iss. 10: P. 1249 – 1262.
7. Coskun U, Simons K, Cell membranes: the lipid perspective: Structure, 2011, Vol. 19 (11): P. 1543 – 1548.
8. Bahmut I.YU. Strukturno – funktsional'nyy stan membran pidvplyvom polietylenoksydiv v eksperymentu / V.Y.Zhukov, O.A. Nakonechnaya, Y.YU. Bahmut // Kharkivs'kyy medychnyy zhurnal. Teoretychna ta eksperymental'na medytsyna, elektronne vydannya: – Kharkiv. – 2013. – № 1. – S. 18 – 24.
9. Bagmut I.Yu., Klimenko N.A., Zhukov V.I., The effect on oligoephirs content on gonadotropik sexual hormones in blood of white rats. High society school 2013: materials of IX international scientific conference – Bulgaria, Sofia, "Byal GRAD – BG" OOD, 2013, V. 37: P. 7 – 10.
10. Nakonechnaya O.A., Bagmut I.Yu., Stetsenko S.A., Bondarev A.V., Effect of oligoephirmonoepoxids and oligoephircyclocarbonats on antioxidant system and detoxification processes in subacute experience: Modern Scientific Journal, 2013, № 52 (191): P. 48 – 55.
11. Zaytseva O. Pidhostryy toksykologichnyy vplyv novoyi hrupy syntezovanykh olihoefiriv na proksydantno – antyoksydantnyy homeostaz bilykh shchuriv / O. Zaytseva, V. Knihavko, I. Bahmut, V. Zhukov, T. Kocharova // ISSN 0206 – 5657. Visnyk L'vivs'koho universytetu. Seriya biolohichna. – 2014. – Vyp. 68. – S. 286 – 292.

*Матеріал надійшов до редакції 01.12.2017*

© Попова Т.М.  
УДК 612.46:615.099] 616-074-092.9

## L-АРГІНІН: ГЛІЦИН-АМІДИНО-ТРАНСФЕРАЗА, ЯК АЛЬТЕРНАТИВНИЙ БІОМАРКЕР УРАЖЕННЯ НИРОК ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ\*

Попова Т.М.

Харківська медична академія післядипломної освіти, Харків

*На сегодняшний день использование человеком поверхностно-активных веществ (ПАВ) в промышленности и бытовой жизни чрезвычайно распространено. В связи с этим, вопрос исследования токсического воздействия ПАВ на органы и организм в целом является актуальным. Также необходима ранняя диагностика изменений, возникающих под влиянием ксенобиотиков. Лапрол-604 является одним из многочисленных представителей неионогенных ПАВ, который благодаря особым физико-химическим свойствам широко используется в химико-фармацевтической промышленности. По химическим характеристикам - это сложная органическая смесь полиоксипропиленполиолов, которая хорошо растворяется в воде и органических растворителях: ацетоне и спиртах. Выбор данного ксенобиотика был обоснован отсутствием в научной литературе данных о механизмах его действия на репродуктивную систему и необходимостью разработки прогностической характеристики потенциальной опасности для человека и теплокровных животных. В данном исследовании мы стремились выяснить, как Лапрол-604 влияет на показатели функционального состояния почек взрослых крыс. Трех экспериментальным группам животных (10 самцов в каждой) вводили водный раствор Лапрола-604 в различных дозах: первой группе - в дозе 1/10 ЛД50; второй - в дозе 1/100 ЛД50; третий - в дозе 1/1000 ЛД50. Ксенобиотик вводили один раз в сутки с помощью желудочного зонда в течение 30 дней. Контрольную группу составили 10 самцов крыс, находившихся на стандартном рационе вивария без введения Лапрола-604. Для оценки токсического действия Лапрола-604 на почки определяли содержание общего белка, креатинина, мочевины в сыворотке крови и моче крыс. Дополнительно определяли активность фермента L-аргинин: глицин-амидино-трансферазы в сыворотке крови крыс. Введение Лапрола-604 взрослым самцам крыс привело к олигурии, гиперазотемии, уремии и протеинурии, а также к появлению специфического для почек фермента L-аргинин: глицин-амидино-трансферазы в сыворотке крови. Уровень L-аргинин: глицин-амидино-трансферазы в сыворотке крови возрастал с повышением дозы Лапрола-604. Получена достоверная разница по концентрации L-аргинин: глицин-амидино-трансферазы в сыворотке крови между первой и второй, первой и третьей группами. Следовательно, токсическое действие Лапрола-604 на крыс приводило к метаболическим нарушениям в организме животных, и влияние было дозозависимым.*

**Ключевые слова:** Лапрол-604, поверхностно-активное вещество, полиолы, скорость клубочковой фильтрации, креатинин, мочевина, L-аргинин: глицин-амидино-трансфераза, почки.

### Вступ

На сьогоднішній день у зв'язку з поширенням використанням поверхнево-активних речовин у промисловості і побутовому житті є актуальним дослідження токсичного впливу даних речовин на організм [14, 16, 18]. У зв'язку з цим існує необхідність вивчати дію поверхнево-активних речовин (ПАР) на організм в цілому та органи окремо, розробляти ранню діагностику змін, які виникають під впливом даних ксенобіотиків. Одним із численних представників неионогенних ПАР є Лапрол-604, який завдяки особливим фізико-хімічним властивостям широко використовується в хіміко-фармацевтичній промисловості. За хімічними характеристиками – це складна органічна суміш поліоксипропиленполіолов, добре розчинна у воді і органічних розчинниках: ацетоні та спиртах. Вибір даного ксенобіотика був обґрунтований відсутністю в науковій літературі даних про механізми його дії на репродуктивну систему і необхідністю розробки прогностичної характеристики потенційної небезпеки для людини і теплокровних тварин. У даному дослідженні ми прагнули з'ясувати, як пренатальна дія Лапролу-604

впливає на показники функціонального стану нирок нащадків-щурів.

Відомо, що інтоксикаційний синдром характеризується накопиченням в тканинах і біологічних рідинах організму продуктів порушеного обміну речовин та метаболітів, супроводжується функціональними і морфологічними ураженнями органів та систем організму. Під час інтоксикації важливим детоксикаційним органом є нирки. На сьогоднішній день для оцінки функції нирок визначають креатинін в сироватці крові та сечі з подальшим розрахунком величини клубочкової фільтрації [10, 17, 19].

Існує уніфікований метод лабораторної діагностики фільтраційної функції нирок – визначення креатиніну в сироватці крові та сечі [4]. Метод полягає у взаємодії креатиніну з пікриновою кислотою у лужному середовищі з утворенням таутомеру пікрату креатиніну помаранчевого кольору. Цей метод є низько специфічним при проведенні аналізу в біологічних рідинах, оскільки пікринова кислота взаємодіє з некреатиніновими хромогенами (протеїнами, глюкозою, ацетоном, білірубінном, ацетооцтовою та пірвіноградною кислотами) з утворенням сполук, які поглинають у тій самій ділянці, що й пікрат креатиніну. Загалом кожна

\* Цитування при атестації кадрів: Попова Т.М. L-аргінин: гліцин-амідіно-трансфераза, як альтернативний біомаркер ураження нирок при інтоксикації у тварин в експерименті. // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 67–70.

речовина, що має активну метильну групу, може реагувати з пікратом [15]. У реакцію з лужним пікратом може вступати також антикоагулянти ( гепарин, цитрат, оксалат). Коливання рівня креатиніну у сироватці крові відбувається не тільки при нирковій недостатності, але і при інших патологіях. Так, підвищення вмісту креатиніну в сироватці крові відбувається при кишковій непрохідності, цукровому діабеті, патології печінки, гіпофункції надниркових залоз, гіпертиреозі, також при порушенні рівня соматотропного гормону, голодуванні, м'язовій дистрофії, великих опіках [6].

Відомо, що фермент L-аргінін: гліцин-амідіно-трансфераза – є органоспецифічним для нирок. L-аргінін: гліцин-амідіно-трансфераза каталізує першу реакцію синтезу креатину, а саме перенесення амідінової групи (-NH<sub>2</sub>-C=NH-) з L-аргініну на гліцин з утворенням продуктів реакції: L-орнітину і гуанідиноцтової кислоти. Процес відбувається тільки у нирках. Дослідження показали, що кров, сеча та тканини печінки, серця, пошматованої мускулатури, мозку, селезінки, органів травного тракту тварин і людини не активні за відношенням до реакції трансамідинування. Крім ниркової тканини, активність L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази виявлена в тканині підшлункової залози. Однак в підшлунковій залозі фермент зв'язаний з клітинними структурами міцніше, ніж в нирках, внаслідок чого він не надходить в кровообіг при запаленні і набряку цієї залози. Тільки при панкреонекрозі L-аргінін: гліцин-амідіно-трансфераза може бути виявлена в крові. На підставі численних даних L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферазу вважають органоспецифічним ферментом нирок [12, 13].

У даному дослідженні ми прагнули з'ясувати якою мірою визначення ферменту L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази може бути використано, як лабораторний тест для діагностики ураження нирок, яке виникло під дією ксенобіотика Лапрол-604.

Робота є фрагментом НДР ХМАПО «Патохімічні механізми дії радіотоксинів на організм та принципи їх ранньої діагностики та корекції» (номер державної реєстрації № 0117U000589).

Мета дослідження: удосконалити діагностику ураження нирок за рахунок виявлення активності L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази у сироватці крові щурів при інтоксикації в експерименті.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконані на 40 статевозрілих самцях щурів лінії Wistar віком 3 місяці, з масою тіла 180-210 г. Утримання і маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», (Україна, 2001), що узгоджені з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [11].

Тварин рандомізовано поділили на 4 групи по 10 щурів в кожній: контрольну та три експериментальні. Модель інтоксикації відтворювали шляхом введення водного розчину Лапролу-604 щурам експериментальних груп. Щурам першої, другої та третьої експериментальних груп внутрішньошлунково вводили водний розчин Лапролу-604 у дозі 1/10, 1/100 та 1/1000 ЛД 50 (12,5г/кг), відповідно, один раз на добу за допомогою шлункового зонду впродовж 30 днів. Контрольну (інтактну) групу становили 10 самців щурів, які перебували на стандартному раціоні віварію, без введення Лапролу-604. Тварин всіх груп поміщали в ме-

таболічні клітки і збирали сечу в умовах спонтанного діурезу протягом доби. Щурів декапітували під тіопенталовим наркозом, який вводили внутрішньочеревно у дозі 20мг/кг, збирали кров з магістральних судин у центрифужні пробірки. Від кожної з чотирьох груп щурів отримали зразки сироватки крові, яку зберігали при температурі – 20 С. Для оцінки токсичної дії Лапролу-604 на нирки щурів у сироватці крові визначали вміст загального протеїну (колориметричний метод, біуретовий), креатиніну (кінетичний метод Яффе), сечовини (колориметричний метод по Бертелот) [4]. У пробах сечі визначали концентрацію загального протеїну, креатиніну, сечовини на цифровому спектрофотометрі PD-303 (Arel, Японія), згідно з інструкціями з використання стандартних тест-наборів реагентів ТОВ «СпайнЛаб» (Харків, Україна).

Розраховували показники функціонального стану нирок: діурез за добу та хвилину, швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) за кліренсом ендогенного креатиніну, канальцеву реабсорбцію, індекс концентрації сечовини та кліренс сечовини [1]. Крім того, визначали активність L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази, який є органоспецифічним для нирок.

Для дослідження активності L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази у сироватці крові щурів застосовували колориметричний метод, запропонований Van Pilsom J.F. та удосконалений Тимошенко О.П. [8]. Його принцип методу базується на тому, що L-аргінін: гліцин-амідіно-трансфераза каталізує, як перенесення амідінової групи з L-аргініну на гліцин, так і прискорює реакцію перенесення амідінової групи з L-канаваніну на L-орнітин з перетворенням їх в L-аргінін і L-канаванін. Утворений L-аргінін вимірюють на спектрофотометрі (при  $\lambda = 500$  нм) з застосуванням кольорової реакції Сакагучі. За отриманими даними будували калібрувальний графік.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми «STATISTICA 6.0». Розраховували середнє арифметичне (M), середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ) та середню похибку середнього арифметичного (m). Оцінку ймовірності різниці середніх величин у порівнюваних групах проводили за допомогою критерію Стьюдента (t). Зміни вважали достовірними при  $p < 0,05$  [5].

### Результати та їх обговорення

В процесі аналізу показників функції нирок тварин, які отримували Лапрол-604 виявили у них значні відхилення у порівнянні з контрольною групою щурів. Так, встановлено, що добовий діурез на 48,4%, 30,8%, та 21,6% є нижчим у щурів першої, другої та третьої експериментальних груп, відповідно, у порівнянні з інтактною групою (табл. 1).

У щурів першої групи екскреція креатиніну і сечовини достовірно знизилась в 1,8 та 1,9 разів, відповідно, порівняно з контролем. У тварин другої групи виявили вірогідне зниження виділення, як креатиніну, так і сечовини у 1,5 рази. Як наслідок – підвищення вмісту креатиніну і сечовини в сироватці крові у тварин першої групи в 2,1 та 3,2 рази, відповідно, а у тварин другої групи – в 1,8 та 2,4 рази, відповідно, порівняно з показниками щурів контрольної групи. Також виявили зниження індексу концентрації сечовини та кліренсу сечовини у 6,2 рази та у 12 раз, відповідно, у тварин першої групи порівняно з показниками інтактних тварин. Отримані результати свідчать про зниження активності виділення продуктів азотистого обміну нирками.

Показники	Група щурів			
	Контрольна (n=10)	Перша 1/10 ЛД50 (n=10)	Друга 1/100 ЛД50 (n=10)	Третя 1/1000 ЛД50 (n=10)
Загальний білок сироватки крові, г/л	68,52 ± 3,14	51,48 ± 2,10 <sup>1</sup>	57,76 ± 2,03 <sup>1*</sup>	62,89 ± 2,80 <sup>2</sup>
Креатинін сироватки крові, мкмоль/л	42,38 ± 3,73	87,63 ± 3,04 <sup>1</sup>	79,75 ± 3,43 <sup>1</sup>	51,30 ± 4,20 <sup>2</sup>
Сечовина сироватки крові, ммоль/л	5,72±0,38	18,33 ± 0,69 <sup>1</sup>	13,47 ± 0,75 <sup>1</sup>	7,73 ± 1,51 <sup>2</sup>
Загальний білок сечі, г/л	0,18 ± 0,05	0,49 ± 0,08 <sup>1</sup>	0,36 ± 0,05 <sup>1</sup>	0,24 ± 0,09 <sup>2</sup>
Креатинін сечі, мкмоль/л	7374 ± 297	4243 ± 319 <sup>1</sup>	4987 ± 314 <sup>1</sup>	6129 ± 338 <sup>2</sup>
Сечовина сечі, ммоль/л	83,26 ± 1,99	43,27 ± 2,65 <sup>1</sup>	55,78 ± 2,56 <sup>1</sup>	79,18 ± 2,36 <sup>2</sup>
Діурез за добу, мл	15,9 ± 1,12	8,2 ± 1,4 <sup>1</sup>	11,01 ± 1,16 <sup>1</sup>	12,53 ± 1,17 <sup>2</sup>
Діурез, мл/хв.	0,01104 ± 0,00012	0,00569 ± 0,00008 <sup>1</sup>	0,00765 ± 0,00017 <sup>1</sup>	0,00870 ± 0,00005 <sup>2</sup>
ШКФ, мл/хв	1,92 ± 0,05	0,276 ± 0,08 <sup>1</sup>	0,478 ± 0,06 <sup>1</sup>	1,039 ± 0,08 <sup>2</sup>
Канальцева реабсорбція, %	99,430 ± 0,062	97,938 ± 0,176 <sup>1</sup>	98,399 ± 0,158 <sup>1</sup>	98,852 ± 0,174 <sup>2</sup>
Індекс концентрації сечовини, од.	14,56 ± 1,18	2,36 ± 0,15 <sup>1</sup>	4,14 ± 0,26 <sup>1</sup>	10,24 ± 1,58 <sup>2</sup>
Кліренс сечовини, мл/хв.	0,1607 ± 0,0053	0,0134 ± 0,0016 <sup>1</sup>	0,0317 ± 0,0024 <sup>1</sup>	0,0891 ± 0,0019 <sup>2</sup>
L-аргінін: гліцин-амідіно-трансфераза сироватки крові, мкмоль/с·л	-	39,73±2,15	21,88±2,66 <sup>2</sup>	2,84±0,16 <sup>2</sup>

Примітка: 1 - порівняно з контрольною групою (p < 0,05);

2 – порівняно з першою групою (p < 0,05).

Підвищення концентрації білку в сечі в 2,7 раз та в 2 рази при одночасному його зниженні на 25% та 17% в сироватці крові у досліджуваних тварин першої та другої групи, відповідно, вказує на порушення клубочкової фільтрації, яка характеризується зниженням в 6 та 4 рази, відповідно групі, кліренсу креатиніну в порівнянні з показниками щурів контрольної групи. Вказані зміни свідчать про виражену гіпопротеїнемію у щурів даних експериментальних груп.

Введення Лапролу-604 спричинило виникненню гіперазотемії у щурів, що можна пояснити значним зниженням виведення азотовмісних продуктів метаболізму. Найбільш високі значення азотовмісних речовин в сироватці крові зареєстровані у групі щурів, що отримали дозу Лапролу-604 1/10 ЛД 50. Виявлені зміни вказують на ступінь тяжкості токсичного пошкодження нирок під дією Лапролу-604 у дозі 1/10 ЛД 50.

Аналізуючи результати біохімічних досліджень сироватки крові та сечі щурів встановлено, що Лапролу-604 у дозах 1/10 та 1/100 ЛД50 спричинив суттєві зміни показників функціонального стану нирок тварин першої та другої експериментальних груп. Подібні зміни спостерігалися серед показників функції нирок щурів третьої групи, проте вони мали тенденційний характер. Так, вміст креатиніну та сечовини у сироватці крові самців, інтоксикованих Лапролом-604 у дозі 1/1000 підвищився на 21% та 35%, відповідно, а концентрація загального білка знизилася на 8,2%, порівняно зі щурами контрольної групи.

Поява специфічного ферменту L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази у сироватці крові щурів експериментальних груп свідчить про негативний вплив Лапролу-604 на нирки тварин. Було з'ясовано, що збільшення дози досліджуваного поліолу сприяє вірогідному зростанню активності L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази у сироватці крові щурів. Поява та збільшення активності L-аргінін: гліцин-амідіно-трансферази в сироватці крові дослідних щурів вказує на

деструктивні процеси, що відбувалися в паренхімі нирок експериментальних щурів.

Рівень L-аргінін: гліцин-амідінотрансферази у сироватці крові щурів змінювався залежно від дози Лапролу-604. Отримана вірогідна різниця вмісту L-аргінін: гліцин-амідінотрансферази у сироватці крові щурів першої та другої, першої та третьої груп.

Порівняльний аналіз між показниками тварин експериментальних груп вказав, що збільшення дози Лапролу -604 призводило до появи достовірної різниці між показниками щурів першої та третьої груп. Так, добовий діурез, швидкість клубочкової фільтрації, був нижче в 1,5 та в 3,7 рази, відповідно, у самців першої групи в порівнянні з самцями третьої групи. У сироватці крові самців першої групи концентрація креатиніну та сечовини вірогідно перевищував в 1,7 та в 2,3 рази, відповідно, показники тварин третьої групи. Відмічена достовірна різниця між концентраціями загального білку у сироватках крові щурів першої та третьої груп.

Введення водного розчину Лапролу-604 впродовж 30 днів призвело до порушення фільтраційно-видільної функції нирок, що стало наслідком специфічного токсичного впливу його метаболітів (кетони, ацетон) на нирки [2, 7, 9].

Таким чином, у дослідженні виявлено достовірне підвищення рівня креатиніну, сечовини в сироватці крові тварин першої та другої груп під впливом Лапролу-604, порівняно з контролем. Це вказує на порушення виведення продуктів азотистого обміну нирками тварин цих груп. За показниками біохімічного аналізу сироватки крові та сечі щурів з'ясували, що введення Лапролу-604 у дозах 1/10 і 1/100 ЛД50 впродовж 30 днів призвело до вірогідного зменшення добового діурезу в 1,9 та 1,4 рази, відповідно, у порівнянні з контрольними значеннями, і, як наслідок, до зниження кліренсу ендogenousного креатиніну.

Результатом токсичної дії Лапролу-604 стало пригнічення ниркової екскреції креатиніну та сечовини, канальцевої реабсорбції, втрата білка із сечею та по-

ява специфічного ферменту L-аргінін: гліцин-амідінотрансферази. Вплив Лапролу-604 на паренхіму нирок може здійснювати безпосередньо сам поліол, або його метаболіти. З наукових даних про механізм несприятливого впливу поліолів на живі організми відомо, що ПАР прискорюють перекисне окислення клітинних мембран. Результати досліджень інших науковців свідчать про більш токсичну та руйнівну дію, яку мають продукти розпаду і метаболіти поліолів [2,3,9]. Отримані дані дають підстави для подальших експериментальних досліджень механізму дії лапролу-604 організм в цілому.

### Висновки

На підставі отриманих результатів досліджень дії Лапролу-604 на нирки щурів лінії Вістар можливо зробити наступні висновки:

1. Введення Лапролу-604 у дозах 1/10 та 1/100 ЛД 50 щурам лінії Вістар спричинило токсичне пошкодження нирок тварин, що симптоматично проявилось олігурією, гіперазотемією, уремією та протеїнурією.
2. Дія Лапролу-604 мала дозозалежний характер.
3. Так, як досліджуваний показник – фермент L-аргінін: гліцин амідінотрансфераза є органоспецифічним для нирок, то його поява у сироватці крові свідчить про патологічний стан нирок.
4. Лабораторну діагностику патології нирок тварин можна поліпшити за допомогою визначення L-аргінину: гліцин-амідінотрансферази в сироватці крові.

### Література

1. Брюханов В. М., Зверев Я. Ф., Лампатов В. В., Жариков А. Ю. Методические подходы к изучению функций почек в эксперименте на животных. // Нефрология. – 2009. – Т. 13, №3. – С. 52 – 62.
2. Жуков В.И. Медико-биологические аспекты проблемы охраны водных объектов от загрязнения поверхностно активными веществами/ Жуков В.И., Кратенко Р.И., Резуненко Ю.К. [др.] // Харьков, 2000. – 397 с.
3. Жуков В.И., Маракушин Д.И., Наконечная О.А., Стеценко С.А. Влияние оксизетилированных алкилфенолов на состояние мембран в токсикологическом эксперименте.// Медицина сьогодні і завтра. - 2012. - № 3/4. - С. 54-60.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С.Камышников. – 3-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – С. 243-260. (896 с.)
5. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич // - К.: Морион, - 2000. - 320 с.
6. Назаренко О.А. Креатинін та методи його визначення / О. А. Назаренко, Т. А. Сергеева О. П. Солдаткін // Біотехнологія. – 2009. –Т.2, №1. – С. 107-116.
7. Попова Т.М., Жарова Н.В., Колесник И.Л., Аполонина А.В., Погорелов В.В., Титкова А.В., Багмут И.Ю., Жуков В.И. Типовые патохимические реакции повреждающего действия детергентов как источников образования радиотоксинов // Проблемы экологии і медицины. – 2015. – Т. 19, № 5-6. – С. 11–17.
8. Тимошенко О.П. Визначення активності трансамідаза в сироватці крові уніфікованим методом // Клінічна біохімія / за ред. проф. О. П. Тимошенко. – К.: Професіонал, 2005. – С. 261–263.
9. Щербань Н.Г., Капустник А.В., Жуков та ін. Медико-токсикологическое изучение поверхностно-активных веществ в связи с проблемой санитарной охраны источников питьевой воды.//Международный медицинский журнал. – 2013. - №2. - С.116-120.
10. Brosnan M.E., Brosnan J.T. Renal arginine metabolism. Review article / M.E Brosnan., J.T. Brosnan // J. Nutr.- 2004 Oct; Vol. 134.- P. 2791-2797.
11. Council of Europe [France]. Eroupean convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg,18.III.1986, <http://conventions.coe.int/treaty/en/Treaties/Word/123.doc>
12. Gross M.D., Eggen M.A., Simon A.M., Van Pilsum J.F. The purification and characterization of human kidney L-arginine: glycine amidinotransferase / M.D. Gross, M.A. Eggen, A.M. Simon, J.F. Van Pilsum // Arch. Biochem. Biophys.-1986.- Vol. 251.- № 2.- P.747-755.
13. Gross M.D., Simon A.M., Jenny R.J., Gray E.D., Mc.Guire D.M., Van Pilsum J.F. Multiple forms of rat kidney L-arginine: glycine amidinotransferase / M.D. Gross, A.M. Simon, R.J. Jenny, E.D. Gray, D.M. Mc.Guire, J.F. Van Pilsum // J. Nutr.-1988.- Vol.-118.- №11.-P. 1403-1409.
14. Ivanković T, Hrenović J (2010) Surfactants in the environment Arh. Hig. Rad. Toksikol. 61(1): 95-110
15. Lamb E. J., Wood J., Stowe H. J. Susceptibility of glomerular filtration rate estimations to variations in creatinine methodology: a study in older patients E.J. Lamb, J. Wood, H.J. Stowe // Ann. Clin. Biochem. — 2005. — V. 42. — P. 11–18.
16. Murakami M, Imamura E, Shinohara H, Kiri K, Muramatsu Y, Harada A et al (2008) Occurrence and sources of perfluorinated surfactants in rivers in Japan. Environ Sci Technol 42:6566–6572
17. Nancy Boucot Cummings M. D. and Saulo Klarh M.D. Chronic renal disease Causes, Complications and Treatment /M.D. Nancy Boucot Cummings and M.D. Saulo Klarh. - New York and London.- Plenum medical book company, 1985.-P. 501-502.(597).
18. Olkowska E, Ruman M, Kowalska A and Polkowska Z (2013) Determination of surfactants in environmental samples. Part III. Non-ionic compounds. Ecological Chemistry and Engineering S 20 (3): 449–461.
19. Telma Bazzano, Tamy Ingrid Restel, Lenir Cardoso Porfirio et al Renal biomarkers of male and female Wistar rats (Rattus norvegicus) undergoing renal ischemia and reperfusion // Acta Cir. Bras. - .2015/- Vol.30 № 4.- P. 277-287.

## ENGLISH VERSION: L-ARGININE: GLYCINE-AMIDINOTRANSFERASE AS AN ALTERNATIVE BIOMARKER OF ANIMAL RENAL DAMAGE IN EXPERIMENTAL INTOXICATION\*

T.M. Popova

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

*Nowadays, surfactants are actively used in industry and household life. In this regard, the issue of studying their toxic effects on organs and the entire body is relevant. Early diagnosis of changes caused by xenobiotics is also necessary. Laprol-604 is one of numerous non-ionic surfactants, which due to its special physical chemical properties is widely used by the chemical-pharmaceutical industry. According to chemical properties, it is a complex mixture of organic polyoxypropylene polyols that are readily dissolved in water and organic solvents: acetone, and alcohols. This xenobiotic was selected due to the absence of data on reproductive effect in the scientific literature and the need to develop a prognosis of potential hazard to humans and warm-blooded animals. In this study, we strived to find out how laprol-604 influences on the functional state of adult rat kidneys. Three experimental groups of rats (10 male rats in each) were administered various doses of laprol-604 water solution: the first group was given 1/10 LD50; the second group - 1/100 LD50; the third group - 1/1000 LD50. The xenobiotic has been administered once daily by gavage at doses for 30 days. The control group consisted of 10 male rats on a standard ration of the vivarium without Laprol-604 administration. The laprol-604 toxic effect on the rat kidneys was estimated by determination of the concentration of total protein, creatinine, urea in serum and urine of rats. L-arginine: glycine amidinotransferase was additionally determined in the serum of rats. Administration of laprol-604 led to oliguria, hyperazotemia, uremia, and proteinuria as well as to the appearance of renal specific enzyme – L-arginine: glycine amidinotransferase in the serum of adult male rats. Therefore, the toxic impact of Laprol-604 on rats led to metabolic disturbances in animals, and the effect was dose-dependent.*

**Keywords:** Laprol-604, surfactant, polyols, glomerular filtration rate, creatinine, urea, L-arginine: glycine amidinotransferase, kidneys.

### Introduction

Nowadays, surfactants are widely used in the industry and household life. The study of the toxic effects of these substances on the organism is relevant [14, 16, 18]. Early diagnosis of changes caused by xenobiotics is also necessary. Laprol-604 is one of numerous non-ionic surfactants, which due to its special physico-chemical properties is widely used by the chemical-pharmaceutical industry. According to chemical properties, it is a complex mixture of organic polyoxypropylene polyols that are readily dissolved in water and organic solvents: acetone, and alcohols. In this study, we tried to find out how laprol-604 influences on the functional state of adult rat kidneys. It is known that the intoxication syndrome is characterized by the accumulation of disturbed metabolism products in the tissues and accompanied by functional and morphological damage of the organs and their systems. Kidney is an important detox organ during intoxication. Nowadays, the creatinine concentration is determined in blood serum and urine, then the glomerular filtration value is calculated to assess the renal function [10, 17, 19]. There is a unified method for laboratory diagnosing of the renal filtration function; it involves creatinine determination in serum and urine [4]. The method is creatinine reacts with picric acid to form tautomer of creatinine picrate of orange color; reaction occurs in alkaline medium. This method is low specific for analyzing in biological fluids, because picric acid interacts with non-creatinine chromogens (proteins, glucose, acetone, bilirubin, acetoacetic and pyruvic acids) to form compounds can absorb in the same region as creatinine picrate. In general, if a substance has an active methyl group, it can react with a picrate [15]. Anticoagulants (heparin, citrate, oxalate) react also with an alkaline picrate. The serum creatinine concentration change occurs during renal failure as well as other pathologies. Thus, the serum creatinine has

been increased during the intestinal obstruction, diabetes mellitus, liver pathology, adrenal hypofunction, hyperthyroidism, as well as in case of disturbance of the level of growth hormone, starvation, muscular dystrophy, extensive burns [6].

It is known, that L-arginine: glycine amidinotransferase is the renal-specific enzyme. L-arginine: glycine amidinotransferase catalyzes the first of the two reactions in creatine biosynthesis, transfers the amidino group ( $-C(=NH)NH_2$ ) from L-arginine to glycine yielding L-ornithine and guanidinoacetate. The process occurs in the kidneys. Studies have reported that blood, urine and tissues of the liver, heart, muscles, brain, spleen, digestive system organs of animals and humans are not active with respect to the reaction of transfer of amidino group. In addition, the activity of L-arginine: glycine amidinotransferase is found in pancreatic tissue. However, L-arginine: glycine amidinotransferase is linked stronger with pancreatic cellular structures than with the kidney cells, and this enzyme cannot enter to the bloodstream during inflammation and swelling pancreas. In case of pancreatic necrosis L-arginine: glycine amidinotransferase can be detected in the blood. Numerous data support that L-arginine: glycine amidinotransferase is the renal-specific enzyme [12, 13].

In this study, we elucidated the determination L-arginine: glycine amidinotransferase can be used as a diagnostic laboratory test of kidneys that were damaged by xenobiotic such as Laprol-604.

**The aim of this study** was to improve the kidney damage diagnostics by the way reveal the activity of L-arginine: glycine amidinotransferase in the serum of rat blood during experimental intoxication.

### Materials and methods

The study was performed on forty adult male Wistar rats were 3 months old. They had  $180 \pm 200$ g body weight

\* To cite this English version: T.M. Popova. L-arginine: glycine-amidinotransferase as an alternative biomarker of animal renal damage in experimental intoxication. // Problemy ekologii ta medytsyny. - 2017. - Vol 21, № 5-6. - P. 71-74.

at study start. All the procedures were performed according to "General ethical principles of experiments on animals"(Ukrainian, 2001) that agreed with European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 18.03.1986 [11].

Males were randomly divided into four groups (10 animals in each group): control and three experimental groups. The model of intoxication was produced by oral administration of water solution Laprol-604 to rats of experimental group. Laprol-604 has been administered to male rats once daily by gavage at doses of 1/10, 1/100 and 1/1000 LD50 (median lethal dose) – 12.5g/kg, respectively is the 1-st; 2-nd and 3-rd group for 30 days. The control group consisted of 10 intact male rats were kept on a standard diet, without Laprol-604 administration. Animals were placed in metabolic cages in order to collect 24-hour urine. Rats were euthanized by intraperitoneal administration of thiopental (20 mg/kg) and subsequently decapitated. Trunk blood was collected in centrifuge tubes. Blood serum samples from each of the four rat groups were obtained and stored at a temperature – 20 C.

The serum total protein content was determined by biuret method, creatinine was found by kinetic Jaffe method, urea was measured by colorimetric berthelot method for assessing the Laprol-604 toxic effect on rat kidneys [4]. Concentrations of total protein, creatinine, and urea were determined in urine samples using a spectrophotometer PD-303 (Apel, Japan), according to instructions for using test kits of reagents LLC SpinLab (Kharkiv, Ukraine). The indicators of the renal function: diuresis per day and minute, glomerular filtration rate (GFR) on the clearance of endogenous creatinine, tubular reabsorption, urea concentration index and urea clearance were calculated [1]. In addition, the activity of

L-arginine: glycine amidinotransferase is kidney-specific enzyme was determined. To investigate the activity of L-arginine: glycine amidinotransferase in rat blood serum used the colorimetric method proposed by Van-Pilsum J.F. and improved by Tymoshenko O.P. [8]. Method based on the ability of L-arginine: glycine amidinotransferase catalyzes as the transfer of an amidino group from L-arginine to glycine as accelerates the transfer of the amidino group from L-canavanin to L-ornithine, resulting in L-canavanin and L-arginine, respectively. The produced L-arginine is measured by a spectrophotometer (at  $\lambda = 500$  nm) using the Sakaguchi color reaction. A calibration curve was created using data of this reaction.

The present study is a fragment of the scientific research work of the KhMAPE "Pathochemical mechanisms of radiotoxins impact on the body and the principles of their early diagnosis and correction" (state registration number № 0117U000589).

The statistical data processing was carried out by using the STATISTICA 6.0 software. The average (arithmetic mean) (M), squared deviations from the mean ( $\sigma$ ) and standard error of the mean (m) was calculated. Student's t test was used to detect differences between independent groups of normally distributed variables; difference between groups was considered statistically significant at  $p < 0.05$  [5].

### Results and discussion

While the indicators of animal renal function were analyzed, the significant deviations of kidney function were found in rats which were exposed to Laprol-604 with as compared to the control rat group. Thus, daily diuresis was found to be lower by 48,4%, 30,8%, and 21,6% in the rats of the first, second and third experimental groups, respectively, than in rats of the intact group (Table 1).

Table 1  
Effect of Laprol-604 on the kidney excretory function of adult Wistar rats (M± SEM)

Parameters	Group of rats			
	Control group (n=10)	First group 1/10 LD50 (n=10)	Second group 1/100 LD50 (n=10)	Third group 1/1000 LD50 (n=10)
Serum total protein, g/l	68,52 ± 3,14	51,48 ± 2,10 <sup>1</sup>	57,76 ± 2,03 <sup>1*</sup>	62,89 ± 2,80 <sup>2</sup>
Serum creatinine, mmol/l	42,38 ± 3,73	87,63 ± 3,04 <sup>1</sup>	79,75 ± 3,43 <sup>1</sup>	51,30 ± 4,20 <sup>2</sup>
Serum urea, mmol/l	5,72±0,38	18,33 ± 0,69 <sup>1</sup>	13,47 ± 0,75 <sup>1</sup>	7,73 ± 1,51 <sup>2</sup>
Urine total protein, g/l	0,18 ± 0,05	0,49 ± 0,08 <sup>1</sup>	0,36 ± 0,05 <sup>1</sup>	0,24 ± 0,09 <sup>2</sup>
Urine creatinine, µmol/l	7374 ± 297	4243 ± 319 <sup>1</sup>	4987 ± 314 <sup>1</sup>	6129 ± 338 <sup>2</sup>
Urea in urine, mmol/l	83,26 ± 1,99	43,27 ± 2,65 <sup>1</sup>	55,78 ± 2,56 <sup>1</sup>	79,18 ± 2,36 <sup>2</sup>
Daily diuresis, ml	15,9 ± 1,12	8,2 ± 1,4 <sup>1</sup>	11,01 ± 1,16 <sup>1</sup>	12,53 ± 1,17 <sup>2</sup>
Diuresis, ml/min	0,01104 ± 0,00012	0,00569 ± 0,00008 <sup>1</sup>	0,00765 ± 0,00017 <sup>1</sup>	0,00870 ± 0,00005 <sup>2</sup>
GFR, ml/min	1,92 ± 0,05	0,276 ± 0,08 <sup>1</sup>	0,478 ± 0,06 <sup>1</sup>	1,039 ± 0,08 <sup>2</sup>
Tubular reabsorption, %	99,430 ± 0,062	97,938 ± 0,176 <sup>1</sup>	98,399 ± 0,158 <sup>1</sup>	98,852 ± 0,174 <sup>2</sup>
Index of urea concentration, U	14,56 ± 1,18	2,36 ± 0,15 <sup>1</sup>	4,14 ± 0,26 <sup>1</sup>	10,24 ± 1,58 <sup>2</sup>
Urea clearance, ml/min	0,1607 ± 0,0053	0,0134 ± 0,0016 <sup>1</sup>	0,0317 ± 0,0024 <sup>1</sup>	0,0891 ± 0,0019 <sup>2</sup>
Serum L-arginine: glycine amidinotransferase, µmol/ sec · l	-	39,73±2,15	21,88±2,66 <sup>2</sup>	2,84±0,16 <sup>2</sup>

Note 1 - compared to the control group ( $p < 0,05$ );  
2 - compared to the first group ( $p < 0,05$ ).

In rats of the first group, the excretion of creatinine and urea significantly decreased by 1,8 and 1,9 times, respectively, as compared with the control. In animals of the second group, a significant reduction in the release, both creatinine and urea, by a factor of 1,5 was found. As a result, the increase in the level of serum creatinine and urea in the animals of the first group was 2,1 and 3,2

times, respectively, and in animals of the second group – 1,8 and 2,4 times, respectively, as compared with the rats of the control group. Also, a decrease in the urea concentration and urea clearance index was found to be 6,2 times and 12 times, respectively, in the animals of the first group, as compared to the indices of intact animals.



The obtained results testify that excretion of nitrogen metabolism products by the kidneys was decreased.

While the urine protein concentration was increased by 2,7 and 2 times, the serum protein content was reduced by 25% and 17% in the first and second animal groups, respectively. Disturbance in glomerular filtration was characterized by decreased creatinine clearance by 6 and 4 times, respectively, in the first and second groups as compared to the rat control group. The indicated changes demonstrate a marked hypoproteinemia in these experimental rat groups.

The administration of Laprol-604 caused hyperproteinemia in rats. It can be explained by a significant decrease in the excretion of nitrogen metabolism products. The highest values of serum nitrogen substances were registered in rat group treated by 1/10 LD 50 of Laprol-604. The revealed changes indicate the severity of toxic kidney injury due to Laprol-604 at a dose of 1/10 LD 50.

Biochemical analysis of rat blood serum and urine revealed that Laprol 604 at doses of 1/10 and 1/100 LD50 caused significant kidney functional changes in the first and second experimental animal groups. The similar changes were observed in the renal functional parameters of third group. Thus, the creatinine and urea content was increased by 21% and 35%, respectively, in serum of male rats treated with Laprol-604 at a dose of 1/1000 LD50 but the total protein concentration was decreased by 8,2%, as compared to control group rats. The appearance of kidney-specific enzyme is L-arginine: glycine amidinotransferase in the blood serum of experimental rats evidences to adverse influence of Laprol-604 on animal kidneys. It was found that increasing dose of the studied polyol significantly contributes to elevation of L-arginine: glycine amidinotransferase activity in the serum of rats. The appearance and elevation of serum L-arginine: glycine amidinotransferase activity indicates destructive processes in the renal parenchyma of experimental rats. The L-arginine: glycine amidinotransferase level in the serum of rats varied depending on the dose of Laprol-604. L-arginine: glycine amidinotransferase content was obtained significantly different between blood serum of rats the first and second, first and third groups. Thus, daily diuresis and GFR were lower by 1,5 and 3,7 times, respectively, in the rats of the first group than these data in male rats of the third group.

The concentration of creatinine and urea in blood serum of the first rat group were significantly exceeded by 1,7 and 2,3 times the corresponding indices of the third animal group. There was a significant difference in the concentration of blood serum total protein between the first and third rat groups. Consumption of the Laprol-604 aqueous solution during thirty-days resulted a disturbance of the renal filtration-excretory function due to its metabolites (ketones, acetone) specific toxic influences on the rats kidneys [2, 7, 9].

Therefore, the study revealed the serum creatinine and urea levels in first and second animal groups exposed to Laprol-604 were increased significantly as compared to controls ( $p < 0.05$ ). This indicates disturbance of nitrogen metabolism products excretion through animal kidneys of these groups. According to results of biochemical analysis of blood serum and urine rats treated by doses 1/10 and 1/100 LD50 of Laprol-604 led to daily diuresis a significant reduced of in 1.9 and 1, 4 times, respectively, compared with the control values, and, as a consequence, the endogenous creatinine clearance was decreased. As a result of Laprol-604 toxic effect on the

rat kidney, there was the suppression of creatinine and urea excretion, tubular reabsorption, loss of protein with urine and the appearance of a specific enzyme L-arginine: glycine amidinotransferase. Laprol-604 can influence the renal parenchyma itself as well as its metabolites.

Scientific data concerning the mechanism of polyols adverse effect on living organisms revealed acceleration of cell membranes peroxidation. The studies of other scientists indicate a more toxic and destructive effect of degradation products and metabolites of polyols [2,3,9]. Obtained data provide grounds for further experimental studies of mechanism Laprol-604 influences on the entire organism.

### Conclusion

On the basis of our findings on the influence of Laprol-604 on kidneys of adult Wistar rats, we can reach the following conclusions:

1. The oral administration of Laprol-604 at doses 1/10 and 1/100 LD 50 had toxic effect on kidneys of adult Wistar rats which was manifested by oliguria, hyperazotemia, uremia and proteinuria.
2. The effect of Laprol-604 was dose-dependent.
3. L-arginine: glycine amidinotransferase is a renal-specific enzyme, whose appearance in blood serum can be used as an indicator of kidney pathological condition.
4. Laboratory diagnosis of animal renal pathology can be improved by using the determiner of L-arginine: glycine amidinotransferase in blood serum.

### References

1. Bryukhanov V. M., Zverev YA. F., Lampatov V. V., Zharikov A. YU. Metodicheskiye podkhody k izucheniyu funktsiy pochek v eksperimente na zhivotnykh. // *Neftrologiya*. – 2009. – T. 13, №3. – P. 52 – 62.
2. Zhukov V.I. Mediko-biologicheskiye aspekty problemy okhrany vodnykh ob'yektov ot zagryazneniya poverkhnostno aktivnyimi veshchestvami/ Zhukov V.I., Kratenko R.I., Rezenenko Yu.K. // *Khar'kov*, 2000. – 397 p.
3. Zhukov V.I., Marakushin D.I., Nakonechnaya O.A., Stetsenko S.A. Vliyaniye oksietilirovannykh alkilfenolov na sostoyaniye membran v toksikologicheskom eksperimente.// *Medytsyna s'ohodni i zavtra*. - 2012. - № 3/4. - P. 54-60.
4. Kamyshnikov V.S. Spravochnik po kliniko-biokhimiicheskim issledovaniyam i laboratornoy diagnostike / V.S.Kamyshnikov. – 3-e izd. – M. : MEDpress-inform, 2009. – P. 243-260. (896 p.)
5. Lapach S. N. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniyem Excel / C.N. Lapach, A.V. Chubenko, P.N. Babich // - K.: Morion, - 2000. - 320 p.
6. Nazarenko O.A. Kreatynin ta metody yoho vyznachennya / O. A. Nazarenko, T. A. Serheyeva O. P. Soldatkin // *Biotekhnohohiya*. – 2009. –T.2, №1. – P. 107-116.
7. Popova T.M., Zharova N.V., Kolesnik I.L., Apolonina A.V., Pogorelov V.V., Titkova A.V., Bagmut I.YU., Zhukov V.I. Tipovyye patokhimicheskiye reaktsii povrezhdayushchego deystviya detergentov kak istochnikov obrazovaniya radiotoksinov // *Problemy ekolohiyi y medytsyny*. – 2015. – T. 19, № 5-6. – P. 11–17.
8. Tymoshenko O.P. Vyznachennya aktivnosti transamidnazy v syrovatki krovi unifikovanyim metodom // *Klinichna biokhimiya / za red. prof. O. P. Tymoshenko*. – K.: Professional, 2005. – S. 261–263.
9. Shcherban' N.G., Kapustnik A.V., Zhukov ta in. Mediko-toksikologicheskoye izucheniye poverkhnostno-aktivnykh veshchestv v svyazi s problemoy sanitarnoy okhrany istochnikov pit'yevoy vody.//*Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal*. – 2013. - №2. - P.116-120.

10. Brosnan M.E., Brosnan J.T. Renal arginine metabolism. Review article / M.E Brosnan., J.T. Brosnan // *J. Nutr.*-2004 Oct; Vol. 134.- P. 2791-2797.
11. Council of Europe [France]. Eroupean convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 18.III.1986, <http://conventions.coe.int/treaty/en/Treaties/Word/123.doc>
12. Gross M.D., Eggen M.A., Simon A.M., Van Pilsun J.F. The purification and characterization of human kidney L-arginine: glycine amidinotransferase / M.D. Gross, M.A. Eggen, A.M. Simon, J.F. Van Pilsun // *Arch. Biochem. Biophys.*-1986.- Vol. 251.- № 2.- P.747-755.
13. Gross M.D., Simon A.M., Jenny R.J., Gray E.D., Mc.Guire D.M., Van Pilsun J.F. Multiple forms of rat kidney L-arginine: glycine amidinotransferase / M.D. Gross, A.M. Simon, R.J. Jenny, E.D. Gray, D.M. Mc.Guire, J.F. Van Pilsun // *J. Nutr.*-1988.- Vol.-118.- №11.-P. 1403-1409.
14. Ivanković T, Hrenović J (2010) Surfactants in the environment *Arh. Hig. Rad. Toksikol.* 61(1): 95-110
15. Lamb E. J., Wood J., Stowe H. J. Susceptibility of glomerular filtration rate estimations to variations in creatinine methodology: a study in older patients E.J. Lamb, J. Wood, H.J. Stowe // *Ann. Clin. Biochem.* — 2005. — V. 42. — P. 11–18.
16. Murakami M, Imamura E, Shinohara H, Kiri K, Muramatsu Y, Harada A et al (2008) Occurrence and sources of perfluorinated surfactants in rivers in Japan. *Environ Sci Technol* 42:6566–6572
17. Nanncy Boucot Cummings M. D. and Saulo Klarh M.D. Chronic renal disease Causes, Complications and Treatment /M.D. Nanncy Boucot Cummings and M.D. Saulo Klarh.- New York and London.- Plenim medical book company, 1985.-P. 501-502.(597).
18. Olkowska E, Ruman M, Kowalska A and Polkowska Z (2013) Determination of surfactants in environmental samples. Part III. Non-ionic compounds. *Ecological Chemistry and Engineering S* 20 (3): 449–461.
19. Telma Bazzano, Tamy Ingrid Restel, Lenir Cardoso Porfirio et al Renal biomarkers of male and female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) undergoing renal ischemia and reperfusion // *Acta Cir. Bras.* - .2015/- Vol.30 № 4.- P. 277-287.

*Матеріал надійшов до редакції 21.11.2017*

## ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ АВТОРІВ

З метою дотримання міжнародних правил оформлення, авторам рекомендується ознайомитися з "Єдиними Вимогами до Рукописів для Біомедичних Журналів" на [www.icmje.org](http://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. Автори 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 А4 (210×297 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 загальноживані скорочення можуть подаватися без пояснення. Скорочення у назві статті не є прийнятними. Всі величини приводяться в одиницях СІ, однак допустимими є й інші загальноживані позначення та одиниці вимірювання (l, ml, 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. Автори 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, підписує 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 остаточним 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). Автори 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](http://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 (210×297 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.