



#3 (31), 2018 część 2

Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe

(Warszawa, Polska)

Czasopismo jest zarejestrowane i publikowane w

Polsce. W czasopiśmie publikowane są artykuły ze

wszystkich dziedzin naukowych. Czasopismo

publikowane jest w języku polskim, angielskim,

niemieckim i rosyjskim.

Artykuły przyjmowane są do dnia 30 każdego
miesiąca.

Częstotliwość: 12 wydań rocznie.

Format - A4, kolorowy druk

Wszystkie artykuły są recenzowane

Każdy autor otrzymuje jeden bezpłatny egzemplarz
czasopisma.

Bezpłatny dostęp do wersji elektronicznej
czasopisma.

Zespół redakcyjny

Redaktor naczelny - Adam Barczuk

Mikołaj Wiśniewski

Szymon Andrzejewski

Dominik Makowski

Paweł Lewandowski

Rada naukowa

Adam Nowicki (Uniwersytet
Warszawski)

Michał Adamczyk (Instytut Stosunków
Międzynarodowych)

Peter Cohan (Princeton University)

Mateusz Jabłoński (Politechnika
Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)

Piotr Michałak (Uniwersytet
Warszawski)

Jerzy Czarnecki (Uniwersytet
Jagielloński)

Kolub Frennen (University of
Tübingen)

Bartosz Wysocki (Instytut Stosunków
Międzynarodowych)

Patrick O'Connell (Paris IV Sorbonne)

Maciej Kaczmarczyk (Uniwersytet
Warszawski)

#3 (31), 2018 part 2

East European Scientific Journal

(Warsaw, Poland)

The journal is registered and published in Poland. The
journal is registered and published in Poland.

Articles in all spheres of sciences are published in the

journal. Journal is published in **English, German, Polish**

and Russian.

Articles are accepted till the 30th day of each month.

Periodicity: 12 issues per year.

Format - A4, color printing

All articles are reviewed

Each author receives one free printed copy of the
journal

Free access to the electronic version of journal

Editorial

Editor in chief - Adam Barczuk

Mikołaj Wiśniewski

Szymon Andrzejewski

Dominik Makowski

Paweł Lewandowski

The scientific council

Adam Nowicki (Uniwersytet
Warszawski)

Michał Adamczyk (Instytut Stosunków
Międzynarodowych)

Peter Cohan (Princeton University)

Mateusz Jabłoński (Politechnika
Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)

Piotr Michałak (Uniwersytet
Warszawski)

Jerzy Czarnecki (Uniwersytet
Jagielloński)

Kolub Frennen (University of
Tübingen)

Bartosz Wysocki (Instytut Stosunków
Międzynarodowych)

Patrick O'Connell (Paris IV Sorbonne)

Maciej Kaczmarczyk (Uniwersytet
Warszawski)

**Dawid Kowalik (Politechnika
Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)**
**Peter Clarkwood(University College
London)**
Igor Dziedzic (Polska Akademia Nauk)
**Alexander Klimek (Polska Akademia
Nauk)**
**Alexander Rogowski (Uniwersytet
Jagielloński)**
Kehan Schreiner(Hebrew University)
**Bartosz Mazurkiewicz (Politechnika
Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)**
Anthony Maverick(Bar-Ilan University)
**Mikołaj Żukowski (Uniwersytet
Warszawski)**
**Mateusz Marszałek (Uniwersytet
Jagielloński)**
**Szymon Matysiak (Polska Akademia
Nauk)**
**Michał Niewiadomski (Instytut
Stosunków Międzynarodowych)**
Redaktor naczelny - Adam Barczuk

1000 kopii.

**Wydrukowano w «Aleje Jerozolimskie
85/21, 02-001 Warszawa, Polska»**

**Wschodnioeuropejskie Czasopismo
Naukowe**

**Aleje Jerozolimskie 85/21, 02-001
Warszawa, Polska**

E-mail: info@eesa-journal.com ,

<http://eesa-journal.com/>

**Dawid Kowalik (Politechnika
Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)**
**Peter Clarkwood(University College
London)**
Igor Dziedzic (Polska Akademia Nauk)
**Alexander Klimek (Polska Akademia
Nauk)**
**Alexander Rogowski (Uniwersytet
Jagielloński)**
Kehan Schreiner(Hebrew University)
**Bartosz Mazurkiewicz (Politechnika
Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)**
Anthony Maverick(Bar-Ilan University)
**Mikołaj Żukowski (Uniwersytet
Warszawski)**
**Mateusz Marszałek (Uniwersytet
Jagielloński)**
**Szymon Matysiak (Polska Akademia
Nauk)**
**Michał Niewiadomski (Instytut
Stosunków Międzynarodowych)**
Editor in chief - Adam Barczuk

1000 copies.

**Printed in the "Jerozolimskie 85/21, 02-
001 Warsaw, Poland»**

East European Scientific Journal

**Jerozolimskie 85/21, 02-001 Warsaw, Po-
land**

E-mail: info@eesa-journal.com ,

<http://eesa-journal.com/>

СОДЕРЖАНИЕ

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

Аскерова Т.А., Джафарова Г.А., Абилова Р.Г., Гасанзаде Н.Ч. ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА НА СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ	4
Вознюк А.В. КОМБІНОВАНЕ ЗАСТОСУВАННЯ АКУШЕРСЬКОГО ПЕСАРІЮ ТА ВАГІНАЛЬНОЇ ФОРМИ МІКРОНІЗОВАНОГО ПРОГЕСТЕРОНУ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ У ЖІНОК ІЗ ВАГІТНІСТЮ ДВІЙНЕЮ ТА СОНОГРАФІЧНО ВКОРОЧЕНОЮ ШИЙКОЮ МАТКИ	8
Грек Л.П. ПРОГНОЗУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ СИНДРОМУ ХРОНІЧНОГО ТАЗОВОГО БОЛЮ У ЖІНОК З ГЕНІТАЛЬНИМ ЕНДОМЕТРІОЗОМ ЗА ДОПОМОГОЮ МАТЕМАТИЧНОГО МОДЕЛЮВАННЯ.....	13
Лятифова Н.Ф., Меликова А.Д., Эфендиев А.М. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ НЕКОТОРЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТЕОПОРОЗА И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ.....	23
Мальчевский Ю.Е., Рагимов А.А., Каспаров Э.В. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ С СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ III – IV ФК ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ ПА В ПРОГРАММУ ЛЕЧЕНИЯ	26
Деньга А.Э., Пиндус Т.А., Деньга Э.М. ДЕНСИТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА КОСТИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА	30
Mikhanovskii A. A., Kochina M. L., Kharchenko Yu.V., Shchyt N. M., Fedorenko N.V. MOLECULAR-BIOLOGICAL FACTORS OF RISK OF RECURRENCE AND METASTASES DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER OF THE III-IV STAGES	33
Чайковська М.І., Мартинюк Л.П. ФАКТОР РОСТУ ФІБРОБЛАСТІВ В ТА ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ХВОРОБІ НИРОК	38
Шертаев М.М., Арифджанова Ж.Ф., Собирова Ф.О. АСПЕКТЫ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ИНСУЛЬТА	44
Шурпяк С.О. РЕАБІЛІТАЦІЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВ'Я ЖІНОК З ПОЄДНАНИМИ ДОБРОЯКІСНИМИ ПРОЛІФЕРАТИВНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ І КОМОРБІДНИМИ СТАНАМИ – СТРАТИФІКАЦІЯ РИЗИКІВ І ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ ПІДХОДІВ	46

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Иванова И.Д., Сабари Х.И. РЕДКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ. ИЗМЕНЕНИЯ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ БОЛЬНЫХ ОРФАННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ.....	51
--	----

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Балтина Л.А., Хисамутдинова Р.Ю., Габдрахманова С.Ф., Макара Н.С., Сапожникова Т.А., Шабиева Э.Р., Балтина Л.А. (мл.), Петрова С.Ф., Кондратенко Р.М. НЕЙФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЕОНИФЛОРИНА ИЗ КОРНЕЙ ПИОНА УКЛОНЯЮЩЕГОСЯ (<i>PAEONIA ANOMALA</i>) И ЕГО МЕТИЛОВОГО ЭФИРА	53
Ильяслы Т.М., Гахраманова Г.Г., Гаджалы Н., Исмаилов З.И. СТЕКЛООБРАЗОВАНИЕ И СВОЙСТВА СТЕКОЛ СИСТЕМЫ Tm-As-S(Se).	60
Пестова Н.Ю., Опарина С.Н. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИННОГО СОСТАВА РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (<i>SILYBUM MARIANUM L.</i>).....	65

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

Askerova T. A.

doctor of biological sciences, professor

Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University

Jafarova G. A.

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher

Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University

Abilova R. G.

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher

Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University

Hasanzade N. C.

Associate researcher

Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University

Аскерова Тахира Алимиах

доктор биологических наук, профессор

кафедры Биохимии, Азербайджанского Медицинского Университета

Джафарова Гюлнара Алыша.

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

кафедры Биохимии, Азербайджанского Медицинского Университета

Абилова Рубауа Гадир.

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

кафедры Биохимии, Азербайджанского Медицинского Университета

Гасанзаде Назенин Чингиз.

младший научный сотрудник

кафедры Биохимии, Азербайджанского Медицинского Университета

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА НА СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ β -ТАЛАССЕМИЯХ INFLUENCE OF METABOLISM OF THE IRON FREE-RADICAL PROCESSES AT β -THALASSEMIA

Summary. In this paper, some biochemical indices of lipid peroxidation and iron metabolism have been studied. To realize the goal, venous blood of 15 patients with large β -thalassemia and 30 patients with heterozygous β -thalassemia aged 8-18 years were examined.

The results of the study showed that in patients with large β -thalassemia, the number of damaged erythrocytes, the intensity of chemiluminescence and the level of malonic dialdehyde increased by 2.3 times, 2.6 times and 1.5 times, respectively, compared to control values. Also statistically significant increases in the concentration of iron, copper, ferritin and ceruloplasmin in the serum of patients with large β -thalassemia, respectively, by 2 times, 1.5 times, 12.67 times and 1.7 times compared with the control group. In patients with heterozygous β -thalassemia, the least increase in the parameters of iron metabolism was observed compared with a given large β -thalassemia.

Thus, according to the data obtained in patients with β -thalassemia, an increase in the concentration of iron, copper, and other parameters of iron metabolism play an important role in the activation of peroxidation processes.

Key words: β -thalassemia, erythrocytes, iron, copper, ferritin, transferrin, ceruloplasmin.

Аннотация. В данной работе изучены некоторые биохимические показатели перекисного окисления липидов и метаболизма железа. Для реализации цели обследовано венозная кровь 15-ти больных с большой β -талассемией и 30-ти больных с гетерозиготной β -талассемией в возрасте 8-18 лет.

Результаты исследования показали, что у больных с большой β -талассемией число поврежденных эритроцитов, интенсивность хемилюминесценции и уровень малоновой диальдегида увеличиваются на 2,3 раза, 2,6 раза и 1,5 раза соответственно, по сравнению с контрольными значениями. Также выявлено, статистически значительные увеличения концентрации железа, меди, ферритина и церулоплазмينا в сыворотке больных с большой β -талассемией, соответственно на 2 раза, 1,5 раза, 12,67 раза и 1,7 раза по сравнению с контрольной группой. У больных с гетерозиготной β -талассемией наблюдалось наименьшее увеличение показателей метаболизма железа по сравнению с данными большой β -талассемией.

Таким образом, согласно полученным данным больных с β -талассемией увеличение концентрации железа, меди и других показателей метаболизма железа играют важную роль в активации процессов перекисного окисления.

Ключевые слова: β -талассемия, эритроциты, железо, медь, ферритин, трансферрин, церулоплазмин.

В последнее время изучение метаболизма железа у больных с β -талассемией является актуальным вопросом гематологии. β -талассемия сопровождается комплексом нарушений, среди них перегрузка железом является одним из основных клинических проявлений и требует разработки новых методов диагностики и лечения. Периодические гемотрансфузии и нарушение обмена железа на фоне анемии приводят к перегрузке железом жизненно важных органов [3,6].

У больных β -талассемией при самоокислении изолированных α -цепей в присутствии железа (Fe^{2+}) и кислорода увеличивается скорость образования гидроксильных и других высокоактивных радикалов кислорода (АФК). Избыточное образование АФК приводит к усилению перекисного окисления липидов (ПОЛ) и белков мембраны эритроцитов. Активация ПОЛ может привести к быстрому разрушению клеточных структур и понижению выживаемости эритроидных клеток. Впоследствии усиленного апоптоза эритроидных клеток появляется анемия, которая стимулирует активность неэффективного эритропоэза. Усиленный синтез и распад гемоглобина, то есть активация процессов неэффективного эритропоэза сопровождается высокой абсорбцией железа в желудочно-кишечном тракте. Концентрацию железа регулируют некоторые факторы, которые участвуют в метаболизме железа. В транспортировке всасывающихся в кишечнике железа в депо, ретикулоцитами и его предшественниками в костном мозге важную роль играют трансферрин. Фагоцитирующие макрофаги, получившие железо при разрушении в них эритроцитов в основном передают железо в трансферрин, который использует железо для эритропоэза. Ферритин – в эритрокариоцитах удаляет избыточное железо, не входящее в состав гемоглобина, обеспечивает транспорт железа от ретикулоэндотелиальных клеток к паренхиматозным клеткам печени. Он играет важную роль в депонировании железа, так как уровень циркулирующего ферритина отражает запасы железа в организме [5,6,7,9].

Важная роль в метаболизме железа отводится также меди и церулоплазмину, который осуществляет взаимопревращение Fe^{2+} в Fe^{3+} , необходимым для входа железа в клетки, а также в кровоток для дальнейшего связывания с трансферрином. Медь в составе церулоплазмينا (95%) участвует в биохимических реакциях. 5% меди существует в составе альбумина. Церулоплазмин препятствует выходу железа из депо и перемещению его к трансферрином [8,10].

В настоящее время вопросы изучения влияния нарушения метаболизма железа на состояние окислительной и антиоксидантной системы при β -талассемиях до сих пор остаются открытыми. В связи с этим, целью данной работы было исследование среди больных с β -талассемиями роли некоторых биохимических показателей обмена железа на активность антиоксидантной и прооксидантной системы.

Материалы и методы

С этой целью было обследовано венозная кровь 45 больных β -талассемией. Из них у 15-ти было выявлено большая β -талассемия, у 30-ти больных поставлен диагноз гетерозиготная β -талассемия. Возраст больных колебался от 8 до 18 лет. Контрольную группу составили 15 практически здоровые лица соответствующего возраста.

Число поврежденных эритроцитов считали по методу A. Vontena. Основой метода служит получение чистой эритроцитарной массы с помощью фракционирования клеток крови в градиенте фикола-верографина. В кольце интерфазы находится тромбоциты, мононуклеарные клетки и поврежденные эритроциты без гемоглобина. Число поврежденных эритроцитов считали 25 больших квадратов камеры Горяева и умножили на 50. Получившееся число соответствует на 1 мл крови.

Интенсивность образования АФК исследовали путем пиролюминесценции индуцированной хемилуминесценции (ХЛ) [1,4]. Также было исследовано содержание малондиальдегида (МДА), восстановленного глутатиона (GSH). Состояние системы антиоксидантной защиты анализировали по определению активности каталазы.

Концентрацию МДА определяли по флуоресценции комплекса МДА с тиобарбитуровой кислотой [12].

Состояние активности антиоксидантной системы защиты анализировали по определению активности каталазы. Активность каталазы измеряли при длине волны 410 нм с помощью метода М.А. Корольюк, принцип которого заключается в том, что КТ разрушает субстрат пероксид-водорода, а остальные не разрушенные его частицы измеряют с помощью молибдата-аммония [13]. Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах определяли по методу Эльмана [14].

В сыворотке больных и здоровых лиц было проанализировано концентрация железа, общей железосвязывающей способности (ОЖСС), латентная железосвязывающая способность (ЛЖСС), трансферрина, ферритина, меди и церулоплазмينا. Церулоплазмин определяли общепринятым методом Y. A. Ravi, сущность которого основывается на окислении р-фенилендиамина церулоплазмينا. Содержание железа и меди было определено с помощью реактивных наборов фирмы "Human" путем спектрофотометрии [15]. Иммуноферментным методом определили общее количество трансферрина и ферритина.

Данные обрабатывались с использованием t-критерия Стьюдента, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Вследствие деструктивных нарушений мембран эритроцитов высвобождается гемоглобин и появляются поврежденные эритроциты. Число поврежденных эритроцитов значительно увеличилось у больных с β -талассемией. У гомозиготных больных повышение числа поврежденных эритроцитов составила 2,3 раза ($p < 0,001$), а у гетерозиготных на 1,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем – 15715 ± 1852 (таблица 1.).

Таблица 1 Показатели системы перекисного окисления липидов у больных β -талассемией

Группы Показатели	Контрольная группа (n=10)	Гомозиготная β -талассемия	Гетерозиготная β -талассемия
МДА, мкМ/мл	8,7 $\pm$ 0,37 (2,3–10,7)	12,83 $\pm$ 0,69* (9,11–15,72)	11,39 $\pm$ 0,61* (7,47–15,29)
GSH, мкМ/мл	1,8 $\pm$ 0,39 (0,6–2,2)	1,03 $\pm$ 0,5* (0,24–1,5)	1,26 $\pm$ 0,02* (0,36–1,65)
Каталаза, %	55,6 $\pm$ 0,75 (30,8–70,9)	38,2 $\pm$ 1,45* (29,0–45,6)	44,65 $\pm$ 1,45* (38–65,07)
Интенсивность хемиллюминесценции, у/ед.	21,8 $\pm$ 2,2 (10,8–29,7)	57,6 $\pm$ 6,7* (30,8–70,5)	37,1 $\pm$ 3,3* (29,8–59,6)
Повреждённые эритроциты, у/ед.	15715 $\pm$ 1852 (9087–20179)	36015 $\pm$ 4583* (18715–48067)	26431 $\pm$ 4295* (13719–38419)

Примечание: *-p<0,05- по сравнению с контролем.

При определении ХЛ в гемолизате эритроцитов выявлено увеличение интенсивности свободно-радикального окисления у больных β -талассемией, так как светосумма ХЛ у больных с большой β -талассемией повышается на 2,6 раза (p<0,001), а у больных с гетерозиготной β -талассемией на 1,7 раза (p<0,01) по сравнению с контролем – 21,8 $\pm$ 2,2.

Одним из маркеров ПОЛ является МДА. Согласно полученным результатам содержание МДА в эритроцитах у больных с большой β -талассемией повышается на 1,5 раза (12,83 $\pm$ 0,63 мкМ/мл; контроль – 8,7 $\pm$ 0,37 мкМ/мл) (p<0,01), а у больных с гетерозиготной β -талассемией на 1,3 раза (11,39 $\pm$ 0,61 (p<0,001) по сравнению с нижней границей. Увеличение концентрации МДА и интенсивности ХЛ, свидетельствует об усилении процессов свободно-радикального окисления. МДА – один из конечных продуктов ПОЛ, избыточном количестве вступает во взаимодействие с фосфолипидами и другими компонентами мембран эритроцитов, приводя к деструкции липидного бислоя.

Одним из ферментов антиоксидантной системы организма человека, имеющий высокую концентрацию в эритроцитах является каталаза. Каталаза играет важную роль в защите клеточных структур от разрушения под действием пероксида водорода. Согласно полученным результатам в эритроцитах больных с большой β -талассемией было выявлено значительное уменьшение каталитической активности каталазы. Так активность каталазы уменьшалась у больных с гетерозиготной β -талассемией на 1,2% раза, а у больных с большой β -талассемией на 1,5% по сравнению с контролем. Снижение активности каталазы могут свидетель-

ствовать об усилении интенсивности свободно-радикального окисления и истощения систем антиоксидантной защиты в условиях длительного воздействия АФК [7,11].

Среди антиоксидантов, защищающие клетки от токсических свойств АФК, восстановленный глутатион (GSH) является самым важным компонентом клетки. GSH осуществляет детоксикацию H₂O₂, а также гидроксильных групп. Результаты анализа показывают, что GSH в эритроцитах у больных с большой β -талассемией снижается на 1,7 раза (1,03 $\pm$ 0,5 мкМ/мл; контроль – 1,8 $\pm$ 0,39 мкМ/мл; p<0,01); у больных же с гетерозиготной β -талассемией на 1,4 раза (1,26 $\pm$ 0,02 мкМ/мл; p<0,05) по отношению контрольных значений.

Согласно полученным результатам в сыворотке крови у больных гомозиготной с β -талассемией было выявлено значительное увеличение содержания железа 37,5 $\pm$ 0,13 мкмоль/л (норма 18,85 $\pm$ 0,38 мкмоль/л. Как видно повышенное количество (на 2 раза) железа мы выявили у больных с гомозиготной β -талассемией. ОЖСС 79,6 $\pm$ 3,2 мкмоль/л (норма 63,65 $\pm$ 1,63 мкмоль/л); ЛЖСС 42,1 $\pm$ 6,2 мкмоль/л (норма 31,65 $\pm$ 0,73%); КНТ 73,4 $\pm$ 8,1% (норма 31,20 $\pm$ 2,74%); при большой с β -талассемией содержание ферритина увеличивался на 12,7 раза 2852,4 $\pm$ 525 мкг (норма 225 $\pm$ 125 мкг) по сравнению с нормальными величинами. Общее количество трансферрина же у гомозиготных было 1,45 $\pm$ 0,5 мг/мл (норма 2,25 $\pm$ 0,4 мг/мл). По сравнению с нормой увеличивался также уровень церулоплазмина на 1,7 раза выше (норма 34 мг%). У больных с большой β -талассемией концентрация меди была 28,7 $\pm$ 2,9 мкмоль/л (контроль 19,6 $\pm$ 1,4 мкмоль/л) (табл.2).

Таблица 2 Некоторые биохимические показатели обмена железа у больных с большой β -талассемией

Группа больных Показатели	Контрольная группа	Гомозиготная в-талассемией	Гетерозиготная в-талассемией
Железо, мкмоль/л	18,85 $\pm$ 0,38	37,5 $\pm$ 0,13*	33,4 $\pm$ 1,2
ОЖСС, мкмоль/л	63,65 $\pm$ 1,63	79,6 $\pm$ 3,2*	63,9 $\pm$ 0,15*
ЛЖСС, мкмоль/л	31,65 $\pm$ 0,73	42,1 $\pm$ 6,2*	46,9 $\pm$ 1,7*
КНТ, %	31,20 $\pm$ 2,74	73,4 $\pm$ 8,1*	52,7 $\pm$ 5,6*
Ферритин, мкг/л	225,0	2852,4 $\pm$ 525*	405 $\pm$ 3,5*
Трансферрин, мг/мл	2,25 $\pm$ 0,4	1,45 $\pm$ 0,5*	2,562 $\pm$ 0,117
Медь, мкмоль/л	19,6 $\pm$ 1,4	28,7 $\pm$ 2,9*	24,5 $\pm$ 2,3*
Церулоплазмин, мг%	34,5	58,60 $\pm$ 5,35*	46,19 $\pm$ 4,20

Примечание: *-p<0,05- по сравнению с контролем.

Как видно из полученных результатов, у больных с большой β -талассемией интенсивность образование свободных радикалов повышено по сравнению с больными гетерозиготной β -талассемией (табл. 1.). Усиление свободнорадикального окисления при большой β -талассемии скорее всего связано наибольшим понижением активности антиоксидантной системы, повышением гемолиза и образованием большого количества свободного железа у этих больных.

Согласно полученным результатам в сыворотке крови у больных гетерозиготной β -талассемией было выявлено также увеличение содержания железа на 1,8 больше, чем у нормальных больных ($33,4 \pm 1,2$ ммоль/л). Увеличение ОЖСС, показывает количество железа, которое может связаться с трансферрином. У больных с гетерозиготной β -талассемией уровень ОЖСС было $63,9 \pm 0,15$ мкмоль/л, ($p < 0,001$); ЛЖСС – $46,9 \pm 1,7$ мкмоль/л, ($p < 0,01$); КНТ – $52,7 \pm 5,6\%$, ($p < 0,001$). Содержание СФ 405 ± 35 мкг/л; СТ – $2,562 \pm 0,117$ мг/мл. Активность церулоплазмينا повысился 1,4 раза – $46,19 \pm 4,20$ мг%. Концентрация меди установлено 1,3 раза выше ($24,5 \pm 2,3$ мкмоль/л) ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Анализ метаболизма железа у больных с гомозиготной β -талассемией, показал что, концентрация железа, трансферрина, ферритина, ОЖСС и церулоплазмينا имеют статистически значимые различия с контролем, чем у больных с гетерозиготной β -талассемией.

Периодические гемотрансфузии, высокая абсорбция железа в кишечнике у больных с большой β -талассемией приводит к увеличению концентрации железа в сыворотке крови. У гетерозиготных больных с β -талассемией несмотря на то, что не проводятся периодические гемотрансфузии, усиленная анемия вызывает увеличение абсорбции железа.

Увеличение синтеза ферритина и снижение трансферрина при β -талассемиях также играет важную роль в повышении концентрации железа. Плазменный трансферрин доставляет железо к тканям имеющим специфические рецепторы. В клетке происходит высвобождение железа из трансферрина. Железо высвобождающиеся из трансферрина, внутри клетки связывается с ферритином, который доставляет железо в митохондрии, где оно включается в состав гема, то есть участвует в синтезе гемоглобина. Затем плазменный апотрансферрин возвращается в циркуляцию. При усиленном эритропоэзе повышение потребности эритроидных клеток в железе индуцируют биосинтез рецепторов трансферрина. Медь в составе гепцидина и церулоплазмينا участвует в механизме активного транспорта железа. Стареющие и повреждённые эритроциты фагоцитируются макрофагами в образующихся фаголизосоме под действием гемоксиканазы высвобождают ионы Fe^{2+} , которые через ферропортин выходят в кровоток. Железо, выходящий в кровоток окисляется церулоплазмином и гепцитином для связывания с трансферрином [8,9,10].

В случае высокой активности эритропоэза, выработка гепцидина подавляется, что ведёт к увеличению всасывания железа в кишечнике. Также увеличивается мобилизация железа из макрофагов ретикуло-эндотелиальной системы. Высвобождающиеся железо после окисления в комплексе трансферрина переносится в костный мозг.

Комплекс железо-трансферрин захватывается рецепторами 1-трансферрина, затем пиноцируются. Внутри лизосом трансферрин Fe^{3+} диссоциируется, Fe^{3+} восстанавливается до растворимого Fe^{2+} и попадает в цитоплазму. Несвязанные Fe^{2+} неустойчивые при физиологических pH и быстро образуют нерастворимые в воде оксиды и гидроксиды. Оксиды и гидроксиды, также различные АФК, которые появляются во время окисления α -цепей участвуют в активации ПОЛ. Фракция железа, не предназначенная для костного мозга накапливается в чувствительных органах и приводит к их перегрузке [5,6,11].

Таким образом, при β -талассемиях свободные α -глобиновые цепи в присутствии железа и кислорода в результате самоокисления подвергаются дезинтеграции, при этом освобождается большое количество АФК. Поскольку ферменты антиоксидантной системы не могут полностью инактивировать АФК, то это приводит к инициации цепи реакций ПОЛ и изменению метаболизма железа.

Литература

1. Владимиров Ю.А. Свеченные, сопровождающие биохимические реакции // Саратовский Образовательный Журнал. - 1999. - т. 6. - с. 25-32
2. Рагимова А.А. Настоящие проблемы и перспективы трансфузиологии // Вестник РАМН. - 2012. - № 10. - с. 70-76.
3. Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А. Хемилюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в биологии и медицине // Уфа. - 1995. - 90 с.
4. Фархутдинов Р.Р., Усманова Г.Я. Применение метода люминолзависимой хемилюминесценции эритроцитов для изучения процессов свободно-радикального окисления при различных видах анемий // Проблемы гематологии и переливания крови. - 1999. - № 4. - с. 13-16.
5. Rousson P., Tsoqorokis N.J., Kountouroc D., Livelas S., Diamonti-Kondorokis E. Beta-thalassemia major and fetal iron deficiency; the role of iron and iron-induced oxidative stress // Anemia. - 2013. - dec. Article ID 617204. - 9 p.
6. Hershko C. Pathogenesis and management of iron toxicity in thalassemia // Annals of the New-York Academy of Sciences. - 2010. - vol. 1202. - p. 1-9.
7. Waseem E., Rhemotol K.A., Sojol R. Antioxidant states in beta-thalassemia major single-centre study // Indian Journal of Pathology and Microbiology, 2011. - vol. 54. - № 4. - p. 761-763.
8. Nemeth E., Tomas G. The role of hepcidin in iron metabolism // Acta Haematol. - 2009. - № 122, p. 78-86.
9. Donovan A, Lima G.A., Pimeus S.L. et al. The iron exporter ferritin // Slc 4001 is essential for iron

hemastasis // Cell Metabolism.- 2005.- № 1.- p. 191-200.

11. Paraniolaou G., Tzilianos M., Christokis J.I. et al. Hepsidin in iron overload disorders // Blood. - 2005.- № 105.- p. 4103-4105.

12. Ravin Y.A. Effect of ceruloplasmin on plasma iron in copper deficit swine // Amer. J. Physiology. - 1961.- v. 217. - № 5.- p. 1320-1323.

13. Voskou M., Askon P., Farvis M., Phylaciders M. Kleanthous. Oxidative stress in β -thalassemia and sick cell disease // Reolox Biology. 2015. - vol. 6. - № 12. - p. 226-239.

14. Суплатов С.Н., Боркова Я.И. Суточные и сезонные ритмы перекисей липидов и активности

супероксиддисмутазы в эритроцитах у жителей средних широт и Крайнего Севера // Москва, Медицина, Лаб. дело.- 1986. - № 8.- с. 459-462.

15. Корольок М.Н., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Б. Метод определения активности каталазы // Москва, Медицина, Лаб. дело.- 1988. - № 1. с. 16-19.

16. Elman G. Tissue sulphhydryl // Arg. Biochem., Biochys. - 1959. - № 82.- p. 70-77.

17. Северин О.Б., Басевич В.В., Басова Р.В., Гавриш И.Н., Ярополов А.И. Метод количественного определения церулоплазмينا // Лабораторное дело. Москва, Медицина. -1986.-с. 618-621

Vozniuk A.V.

*PhD student of the Department of Obstetrics and Gynecology №2,
National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine*

Вознюк Андрій Вікторович

аспірант кафедри акушерства та гінекології №2

Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Вінниця, Україна

COMBINED APPLICATION OF OBSTETRICS PESSARY AND VAGINAL FORM OF MICRONIZED PROGESTERONE TO PREVENT PRETERM DELIVERY OF TWINS IN WOMEN WITH SONOGRAPHIC SHORT CERVIX

КОМБІНОВАНЕ ЗАСТОСУВАННЯ АКУШЕРСЬКОГО ПЕСАРІЮ ТА ВАГІНАЛЬНОЇ ФОРМИ МІКРОНІЗОВАНОГО ПРОГЕСТЕРОНУ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ У ЖІНОК ІЗ ВАГІТНІСТЮ ДВІЙНЕЮ ТА СОНОГРАФІЧНО ВКОРОЧЕНОЮ ШИЙКОЮ МАТКИ

Summary. Introduction. Spontaneous preterm birth is the leading cause of perinatal morbidity and mortality. In twins, the rate of preterm birth is higher than in singletons; interventions to prevent preterm birth are needed in this high-risk population.

Purpose of the study. We sought to test whether a cervical pessary and vaginal progesterone reduces the preterm birth rate in twin pregnancies with sonographic short cervix.

Materials and methods.

A prospective study was conducted in 101 women with a twin pregnancy and a sonographic short cervix ≤ 25 mm, which had no signs of premature birth and chorioamnionitis. In 36 women the watchful waiting strategy (group 1, control) was applied, in other 65 women the administration of cerclage cervical pessary in combination with the vaginal form of micronized progesterone was used. The primary outcomes of the study were spontaneous deliveries up to 34 weeks of gestation, the secondary results were perinatal mortality, unwanted neonatal consequences and need for specialized neonatal help.

Results. Conclusions. Full-term births in the group of pregnant women that used obstetric pessary and progesterone were observed in 89% of the cases. Spontaneous preterm labors in the term up to 34 weeks (238 days) of gestation occurred in 10.9% (7/64) of women from the group which used pessary + progesterone and in 33.3% (12/36) of women from the control group with the applied watchful waiting strategy (OR: 0.25; 95% CI: [0.09-0.7], $p=0.006$). A decrease in the number of preterm births and premature rupture of membranes was observed with an increase of the period between the diagnosis and the labor. As a result, an increase in gestational age at birth was observed as well as a decrease in the birth frequency of children with critically small body weight (less than 1500 g) and a decrease of the infant respiratory distress syndrome in the early neonatal period. The use of pessaries has been associated with a higher level of pelvic discomfort and an emergence of new or excessive vaginal secretions.

Key words: twin pregnancies, preterm birth, sonographic short cervix, cervical pessary, vaginal progesterone.

Анотація. Показано, що спонтанні передчасні пологи в терміні до 34 тижнів (238 днів) гестації відбулися у 10,9% (7/64) жінок із групи песаріїв + прогестерон та у 33,3% (12/36) жінок із контрольної групи вичікувальної тактики (СШ: 0,25; 95% ДІ: [0,09-0,7], $p=0,006$). Також відмічено зниження кількості передчасних пологів та передчасного розриву плодових оболонок із збільшенням часу від встановлення діагнозу до пологів і, як наслідок, збільшенням гестаційного віку при народженні, а також зменшення частоти народження дітей із критично малою масою тіла (менше 1500 г) та синдромом дихальних розладів у ранньому неонатальному періоді. Застосування песаріїв асоціювалося з більш високим рівнем тазового дискомфорту та появою нових або посиленням вагінальних виділень.

Ключові слова: багатоплодова вагітність, передчасні пологи, коротка шийка матки, шийковий песарій, вагінальний прогестерон.

На сучасному етапі частота передчасних пологів становить від 4 до 15%, простежується явна тенденція до підвищення даного показника. Майже кожна 10 дитина в світі народжена передчасно, а частка недоношених новонароджених в структурі перинатальних втрат знаходиться в межах 48-58%. В зв'язку з цим актуальною проблемою сучасного акушерства досі залишається проблема передчасних пологів, одним із факторів, котрі асоційовані із ризиком останніх, є багатоплодова вагітність. Пологи двійнею спостерігаються в 2-3% роділь тасупроводжуються передчасним народженням немовлят у 5 разів частіше, ніж при одноплодових вагітностях [12]. Близько 40% багатоплодових вагітностей завершуються пологами до 37 тижнів гестації [5], а серед пологів, котрі відбулися до 32 тижнів, 25% складають багатоплідні пологи. При цьому частота багатоплодових вагітностей збільшилася з 1980 до 2009 року на 76% [6].

15% жінок із багатопліддям мали коротку шийку матки (<25 мм), наявність якої асоціюється з вищим ризиком ранніх і дуже ранніх спонтанних передчасних пологів двійнею [16, 17]. Сучасними варіантами лікування пацієнток із короткою шийкою матки є: призначення прогестерону [3, 14], використання цервікального серкляжу [7, 11], цервікального песарію [7]. Ці методи превенції продемонстрували свою ефективність щодо зменшення частоти передчасних пологів у жінок із одноплодовою вагітністю. Водночас, слід зазначити, що ін'єкційні та вагінальні форми прогестеронів не виявили достовірної ефективності при багатоплідді [1]. Немає й доказів, що серкляж є ефективним методом профілактики передчасних пологів у жінок цієї категорії [14].

Контрверсійними залишаються й дані щодо ефективності акушерського песарію при багатоплідді. Так, у дослідженні В. Arabin et al. (2003) використання песарію у вагітних із сонографічно короткою довжиною шийки матки (≤ 25 мм) зменшило ризик спонтанних передчасних пологів як при одноплодовій, так і при багатоплодовій вагітності [2]. Інші дослідники не виявили відмінностей

у частоті передчасних пологів у жінок із двійнею у разі вичікувальної тактики та при застосуванні акушерського песарію [9, 10].

А. Jarde et al. (2017) проаналізували 23 дослідження, котрі включали 6626 вагітних двійнями. Жодна з інтервенцій не знижувала рівень спонтанних передчасних пологів. Інтравагінальне застосування прогестерону супроводжувалося поліпшенням вторинних результатів: народження маловагих плодів і необхідність ШВЛ [8]. Отже, у жінок із багатоплодовою вагітністю не існує доказів ефективності елективної песарію або серкляжа. Однак, можливим є застосування екстренного серкляжа або песарія в комбінації з вагінальним прогестероном. Це питання активно обговорюється та досліджується [4, 15]. На сьогодні дані про ефективність використання превентивних комбінацій для попередження передчасних пологів у жінок із багатоплодовою вагітністю є недостатні.

Метою даної роботи було оцінити ефективність превентивної комбінації акушерського песарію з вагінальною формою мікронізованого прогестерону у жінок із багатопліддям при вкороченні шийки матки ≤ 25 мм згідно з сонографічними даними для попередження спонтанних передчасних пологів у терміні до 34 тижнів та несприятливих неонатальних наслідків у порівнянні з вичікувальною тактикою.

Матеріали та методи. На базі кафедри акушерства та гінекології №2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова проведено проспективне дослідження 101 жінки з вагітністю двійнею та сонографічно вкороченою шийкою матки ≤ 25 мм (термін гестації на момент рандомізації від 18 до 28 тижнів), у яких не було ознак передчасних пологів та хоріонаміноніту. Ці жінки були розділені на 2 групи, які були порівнянні за віком, антропометричними даними, акушерським анамнезом, терміном вагітності та довжиною шийки матки на момент рандомізації. Окремі характеристики груп представлено в таблиці 1.

Таблиця 1 Деякі характеристики досліджуваних груп

Показник	Група контролю (n=36)	Група песаріїв (n=65)
Вік – роки		
Me	28,0	28,0
LQ, HQ	26,3-34,0	24,0-32,0
Вага – кг		
Me	75,0	78,0
LQ, HQ	67,5-86,8	70,0-85,0
Зріст – см		
Me	167,0	165,5
LQ, HQ	160,0-172,8	158,5-170,5
Акушерський анамнез – n (%)		
Першонароджуючі	19 (52,8)	34 (55,1)
Повторнонароджуючі	17 (47,2)	30 (44,9)
3 пологами до 37 тижнів	5 (13,9)	11 (17,2)
3 пологами ≥ 37 тижнів	12 (33,3)	19 (29,7)
Екстракорпоральне запліднення – n (%)	4 (11,1)	9 (14,1)
Тютюнопаління під час вагітності – n (%)	6 (16,7)	10 (15,6)

Хоріальність – n (%)		
Дихоріальні	29 (80,6)	54 (84,4)
Монохоріальні	7 (19,4)	10 (15,6)
Термін гестації на момент рандомізації – тижні		
Me	22, 0	22,0
LQ, HQ	18,3-24,0	18,5-24,0
Довжина шийки матки на момент рандомізації		
Me (LQ, HQ) – тижні	20 (14-22)	20 (15-22)
≤ 20 мм – n (%)	19 (52,8)	35 (54,7)

Примітка. У таблиці наведено медіани (Me) та інтерквартильні розмахи (25-й та 75-й процентилі)(LQ, HQ).

У 36 жінок контрольної групи застосовували вибірковою тактику. Групу песарію склали 65 жінок, котрим для попередження передчасних пологів на підставі сонографічних даних використовували інсталяцію серкляжного цервікального песарію. Всі жінки групи песарію отримували вагінальну форму мікронізованого прогестерону 200 мг.

Із 101 жінки від початку до кінця в дослідженні взяли участь 100 осіб. Одна жінка з групи песарію вибула за власним бажанням. У трьох випадках існувала необхідність заміни песарію.

Після завершення динамічного спостереження за даними групами вагітних проведено порівняльний аналіз перебігу вагітності та найближчих наслідків пологів для матері й новонародженого. Первинним результатом дослідження були спонтанні пологи до 34 тижнів, вторинними – перинатальна смертність, небажані неонатальні наслідки, потреба у спеціалізованій неонатальній допомозі. Материнських втрат на момент завершення даного етапу роботи не зафіксовано.

Статистична обробка отриманих даних виконувалася у статистичному пакеті «SPSS 20» (SPSS Inc.) з використанням параметричних та непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

Статистично значущими вважалися відмінності при $p < 0,05$ (95%-й рівень значущості).

Результати та обговорення. Спонтанні передчасні пологи в терміні до 34 тижнів (238 днів) гестації, що первинно було кінцевою метою дослідження, відбулися у 10,9% (7/64) жінок із групи песаріїв та у 33,3% (12/36) жінок із контрольної групи вибірковою тактики (СШ: 0,25; 95% ДІ: [0,09-0,7], $p=0,006$). Крім цього, при порівнянні гестаційних строків пологів встановлено, пологи в терміні <34 тижнів не залежно від методу розродження та спонтанні пологи в терміні <37 тижнів також рідше зустрічалися серед жінок із групи песаріїв ($p < 0,05$). Не було встановлено різниці в частоті спонтанних пологів в терміні <28 тижнів та в терміні <32 тижнів (табл. 2).

Таким чином, логістичний регресійний аналіз продемонстрував ефективність поєднаного застосування шийкового песарію та мікронізованого прогестерону щодо зменшення частоти спонтанних передчасних пологів тільки в терміні <34 тижні (СШ: 0,25; 95% ДІ: [0,09-0,7], $p=0,006$), в тому числі й у жінок із монохоріальною двійнею (СШ: 0,08; 95% ДІ: [0,01-0,94], $p=0,036$).

Таблиця 2 Відмінності груп щодо перебігу вагітності та результату пологів

Показник	Група контролю (n=36)	Група песаріїв (n=64)	p	Співвідношення шансів та ДІ (95%)
Спонтанні пологи в терміні <28 тижнів – n (%)	4 (11,1)	3 (4,7)	0,23	0,39 [0,08-1,87]
Спонтанні пологи в терміні <32 тижнів – n (%)	7 (19,4)	6 (9,4)	0,15	0,43 [0,13-1,39]
Спонтанні пологи в терміні <34 тижнів – n (%)	12 (33,3)	7 (10,9)	0,006	0,25 [0,09-0,7]
Пологи в терміні <34 тижнів не залежно від методу розродження – n (%)	13 (36,1)	7 (10,9)	0,003	0,22 [0,08-0,61]
Спонтанні пологи в терміні <37 тижнів – n (%)	14 (38,9)	7 (10,9)	<0,001	0,19 [0,07-0,54]
Час від встановлення діагнозу до пологів, Me (LQ, HQ) – тижні	13,0 (10,0-15,8)	14,86 (13,0-18,0)	0,036	-
Гестаційний вік при народженні, Me (LQ, HQ) – тижні	34,47 (33,0-37,0)	36,31 (36,0-38,0)	0,015	-
Токоліз – n (%)	6 (16,7)	3 (1,9)	0,044	0,25 [0,06-0,95]
Відходження вод у терміні <34 тижнів – n (%)	8 (22,2)	6 (9,4)	0,05	0,33 [0,11-1,05]
Гестаційний вік при відходженні вод, Me (LQ, HQ) – тижні	27,0 (26,0-35,0)	28,5 (27,0-35,5)	0,042	-

Вид пологів – n (%)				
кесарів розтин	20 (55,6)	27 (42,2)	0,2	0,58 [0,26-1,33]
вагінальні пологи	16 (44,4)	37 (57,8)	0,2	1,71 [0,75-3,9]
Тазовий дискомфорт – n (%)	1 (2,8)	10 (15,6)	0,049	6,48 [1,09-52,88]
Вагінальні виділення – n (%)	9 (25)	30 (46,9)	0,031	2,65 [1,08-6,51]
Патогенні знахідки в піхвових мазках – n (%)	12 (33,3)	19 (29,7)	0,71	0,84 [0,35-2,03]
Хоріонамніоніт – n (%)	1 (2,8)	2 (3,1)	0,92	1,13 [0,1-12,9]

Примітка. У таблиці наведено середні арифметичні значення досліджуваних показників (М) і середні квадратичні відхилення (σ).

Порівняння інтервалу від встановлення діагнозу (рандомізації) до пологів у терміні <34 тижні за допомогою математико-статистичної моделі виживаності (Survival analysis) та лог-рангового критерію показало, що кумулятивний відсоток пацієнток, які спонтанно не народили до 34 тижнів,

був достовірно вищим у групі пєсаріїв, ніж у контрольній групі (відношення ризику у групі пєсаріїв склало 5,18; 95% ДІ 1,85-14,54; $p < 0,001$). Графічна оцінка представлена за допомогою методу Каплана – Мейєра (рис. 1)

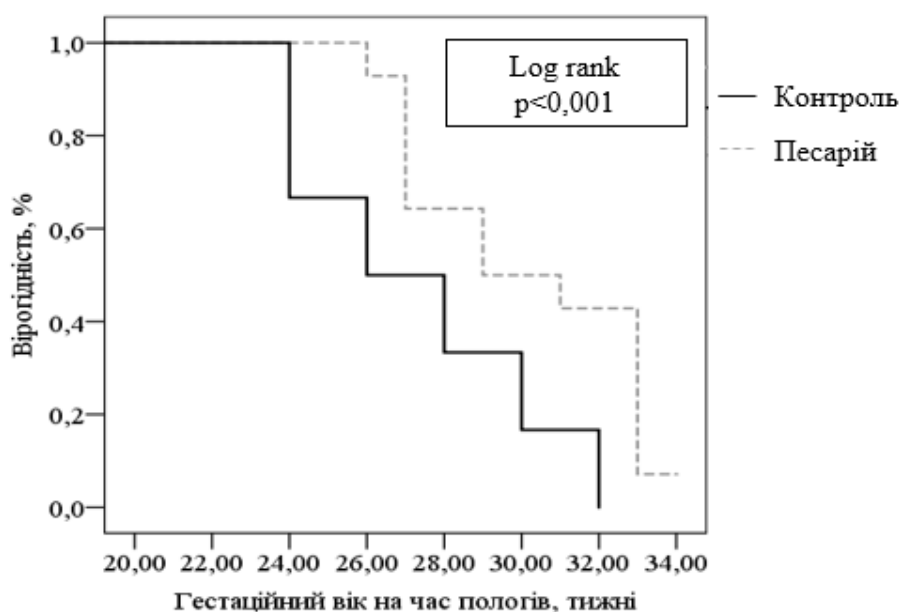


Рис. 5.1 Тривалість вагітності від встановлення діагнозу (рандомізації) до спонтанних пологів до 34 тижнів у жінок, яким застосовували шийковий пєсарій та мікронізований прогестерон, та без профілактичної інтервенції (аналіз Каплана-Мейєра).

Застосування шийкового пєсарію та вагінальної форми мікронізованого прогестерону зумовлювало триваліший латентний період від встановлення діагнозу (рандомізації) до пологів ($p = 0,036$). У групі пєсаріїв також менша частка жінок потребувала проведення токолітичної терапії (3/64, 1,9%), ніж в групі контролю (6/36, 16,7%) (СШ: 0,25, 95% ДІ: [0,06-0,95]; $p = 0,044$). Пологи відбулися у цій групі пізніше, ніж у групі без профілактичної інтервенції ($p = 0,015$).

Передчасний розрив плодових оболонок у групі пєсаріїв також відбувався на більш пізньому терміні вагітності ($p = 0,042$). Частота передчасного відходження вод та проміжок часу від відходження вод до пологів значуще не відрізнявся.

Частота виконання кєсарського розтину була однаковою в обох групах: 27/64 (42,2%) в групі пєсаріїв/прогестерон та 20/36 (55,6%) в контрольній

групі, $p = 0,2$. Відмінностей у застосуванні анестезіологічної допомоги (місцевої і загальної) не встановлено ($p > 0,05$). У кількісній та якісній структурі пологового травматизму значущої різниці між групами також не виявлено.

У групі пєсаріїв була більшою кількість скарг на тазовий дискомфорт (10/64; 15,6%), ніж у контрольній групі (1/36; 2,8%) (СШ: 6,48; 95% ДІ: [1,09-52,88], $p = 0,049$). В цій групі вдвічі більшою була частота нових вагінальних виділень або підвищення кількості виділень (46,9% проти 25% в групі контролю; СШ: 2,65; 95% ДІ: [1,08-6,51], $p = 0,031$). Проте, відсоток учасниць, які мали патогенні знахідки в піхвових мазках, був подібним у групі пєсаріїв та в контрольній групі (29,7% та 33,3% відповідно; $p = 0,71$). Найбільш часто в піхвових та/або шийкових мазках у обох групах виявляли *Candida albicans* (у 4 з 9 випадків у групі контролю,

що склало 44,4% та у 14 з 30 (46,7%) жінок у групі песарій/прогестерон). Мали місце 3 випадки хоріонамніоніту: 1 в групі контролю та 2 в групі песаріїв – 3,1% та 2,8% відповідно ; $p=0,92$ (див. табл. 2).

У 10/64 (15,6%) учасниць шийковий песарій був видалений до 34 тижнів з причин передчасних пологів (1 жінка), передчасних переймів або передчасного розриву плодових оболонок (6 учасниць) та вимоги самих учасниць (3 вагітні: 1 внаслідок дискомфорту, 2 через піхвові виділення). В останніх 3 випадках було продовжено застосування вагінального прогестерону.

Середня маса тіла дітей групи контролю ($2126,1 \pm 667,5$ г) була меншою за такий параметр в групі песаріїв ($2346,9 \pm 659,7$ г) ($p=0,028$). При

цьому порівняння перинатальних наслідків показало, що поєднане застосування персарію та вагінальної форми прогестерону асоціювалося із достовірним зменшенням кількості вагітностей, що завершилися народженням дітей із критично малою масою тіла: 9/64 (14,1%) проти 11/36 (30,6%) у групі контролю (СШ: 0,37; 95% ДІ: [0,13-0,91], $p=0,047$). Відповідно, кількість новонароджених із масою тіла <1500 г була достовірно нижчою в групі персарій/прогестерон порівняно з вичікувальною тактикою та становила 13/128 (10,2%) та 16/72 (22,2%) відповідно (СШ: 0,4; 95%ДІ: [0,18-0,88], $p=0,02$), що пояснює наявну достовірну відмінність у середніх значеннях маси тіла новонароджених у групах порівняння (табл. 3).

Таблиця 3 Відмінності груп щодо перинатальних наслідків

Показник	Група №1 (n=36)	Група №2 (n=64)	p	Співвідношення шансів та ДІ (95%)
	абс. (%)	абс. (%)		
Маса при народженні				
<2500 г	23 (63,9)	34 (53,1)	0,3	0,64 [0,28-1,48]
<1500 г	11 (30,6)	9 (14,1)	0,047	0,37 [0,13-0,91]
Перинатальна смертність	2 (5,6)	2 (3,2)	0,55	0,55 [0,07-4,07]
Інтранатальна	1 (2,8)	1 (1,6)	0,68	0,56 [0,03-9,2]
Неонатальна	1 (2,8)	1 (1,6)	0,68	0,56 [0,03-9,2]
Неонатальні ускладнення				
Інтравентрикулярні крововиливи [III або IV]				
Респіраторний дистрес синдром	2 (5,6)	2 (3,1)	0,25	0,55 [0,07-4,07]
Некротичний ентероколіт [III або IV]	16 (44,4)	27 (42,2)	0,83	0,91 [0,4-2,00]
	1 (2,8)	2 (3,1)	0,92	1,13 [0,1-12,9]
Спеціалізована неонатальна допомога	17 (47,2)	23 (35,9)	0,27	0,63 [0,27-1,44]
Перебування у ВАІТ	12 (33,3)	19 (29,7)	0,71	0,84 [0,35-2,03]
Штучна вентиляція	9 (25,0)	13 (20,3)	0,59	0,76 [0,29-2,02]
Лікування сепсису	3 (8,3)	4 (6,3)	0,7	0,73 [0,15-3,48]
Фототерапія	5 (13,9)	10 (15,6)	0,81	1,15 [0,36-3,67]
Гемотрансфузія	2 (5,5)	5 (7,8)	0,67	1,44 [0,27-7,83]

3 200 новонароджених 26 (36,1%) у групі контролю та 33 (25,8%) у групі персарій/прогестерон потрапили у відділення інтенсивної терапії. Як видно з таблиці 3, частота перинатальної смертності та спеціалізованої неонатальної допомоги не мали значущої відмінності між обома групами, відповідно: СШ: 0,55; 95% ДІ: [0,07-4,07] та СШ: 0,63; 95% ДІ: [0,27-1,44], $p>0,05$.

Натомість, інцидентність синдрому дихальних розладів була достовірно нижчою в групі персаріїв, ніж у контрольній групі: 30/128 (23,4%) проти 27/72 (37,5%) відповідно (СШ: 0,51; 95% ДІ: [0,27-0,96], ($p=0,034$), що ймовірно обумовлено достовірною меншою часткою дітей із малою масою тіла в цій групі. Інших відмінностей у частоті ускладнень неонатального періоду не виявлено. Перебіг раннього післяпологового періоду при порівнянні груп не мав відмінностей ($p>0,05$).

Висновки. Отримані результати свідчать про клінічну ефективність поєднаного застосування акушерського цервікального серкляжного песарію та мікронізованого прогестерону щодо зниженням

кількості передчасних пологів та передчасного розриву плодових оболонок із збільшенням часу від встановлення діагнозу до пологів і, як наслідок, збільшенням гестаційного віку при народженні. Також відмічено зниження частоти народження дітей із критично малою масою тіла (менше 1500 г) та рівнем синдрому дихальних розладів у ранньому неонатальному періоді. Термінові пологи в групі вагітних-користувачів акушерського песарію та прогестерону відбулись у 89% випадків. При цьому не спостерігалось збільшення частоти внутрішньо-утробного інфікування. Застосування песаріїв асоціювалося з більш високим рівнем тазового дискомфорту та появою нових або посиленням вагінальних виділень.

Список літератури

1. Alfirevic Z, Owen J, Carreras Moratonas E. et al. Vaginal progesterone, cerclage or cervical pessary for preventing preterm birth in asymptomatic singleton pregnant women with a history of preterm birth and a sonographic short cervix. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2013; 41(2): 146-51.

2. Arabin B, Halbesma JR, Vork F. et al. Is treatment with vaginal pessaries an option in patients with sonographically detected short cervix? J. Perinat. Med. 2003; 31(2): 122-33.
3. DeFranco EA, O'Brien JM, Adair CD. et al. Vaginal progesterone is associated with a decrease in risk for early preterm birth and improved neonatal outcome in women with a short cervix: a secondary analysis from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ultrasound Obstet. Gynecol. 2007; 30(5): 697-705.
4. Fox NS, Gupta S, Lam-Rachlin J. et al. Cervical Pessary and Vaginal Progesterone in Twin Pregnancies With a Short Cervix. Obstet Gynecol. 2016; 127(4): 625-30.
5. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. Lancet. 2008; 371(9606): 75-84.
6. Hamilton BE, Martin JA, Ventura SJ. Births: preliminary data for 2012. Natl. Vital. Stat. Rep. 2013; 62(3):1-20.
7. Huras H, Kalinka J, Dębski R. Short cervix in twin pregnancies: current state of knowledge and the proposed scheme of treatment. Ginekolog. Pol. 2017; 88(11): 626-632.
8. Jarde A, Lewis-Mikhael AM, Dodd JM. et al. Preterm birth prevention in twin pregnancies with progesterone, pessary, or cerclage: a systematic review and meta-analysis. BJOG. 2017; 124(8): 1163-1173.
9. Liem S, Schuit E, Hegeman M. et al. Cervical pessaries for prevention of preterm birth in women with a multiple pregnancy (ProTWIN): a multicenter, open-label randomized controlled trial. Lancet. 2013; 382(9901): 1341-9.
10. Nicolaides KH, Syngelaki A., Poon LC. et al. Cervical pessary placement for prevention of preterm birth in unselected twin pregnancies: a randomized controlled trial. Am. J. Obstet. Gynecol. 2016; 214(1): 3-5.
11. O'Brien JM, DeFranco EA, Adair CD. et al. Progesterone Vaginal Gel Study Group. Effect of progesterone on cervical shortening in women at risk for preterm birth: secondary analysis from a multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Ultrasound Obstet. Gynecol. 2009; 34(6): 653-9.
12. Office for National Statistics. Births in England and Wales by characteristics of birth, 2013. Available at: <http://www.ons.gov.uk/ons/rel/vsob1/characteristics-of-birth-2-england-and-wales/2013/sb-characteristics-of-birth-2.html>. Accessed Feb. 8, 2015
13. Rafael TJ, Berghella V, Alfirevic Z. Cervical stitch for preventing preterm birth in women with a multiple pregnancy. Cochrane Database Syst Rev. 2014 Sep 10;(9):CD009166. doi: 10.1002/14651858.CD009166.pub2.
14. Romero R, Nicolaides K, Conde-Agudelo A. et al. Vaginal progesterone in women with an asymptomatic sonographic short cervix in the midtrimester decreases preterm delivery and neonatal morbidity: a systematic review and metaanalysis of individual patient data. Am. J. Obstet. Gynecol. 2012; 206(2): 124.e1-19.
15. Stricker N, Timmesfeld N, Kyvernitis I. et al. Vaginal progesterone combined with cervical pessary: A chance for pregnancies at risk for preterm birth? Am. J. Obstet. Gynecol. 2016; 214(6): 739.e1-739.
16. To MS, Fonseca EB, Molina FS. et al. Maternal characteristics and cervical length in the prediction of spontaneous early preterm delivery in twins. Am. J. Obstet. Gynecol. 2006; 194(5): 1360-5.
17. To MS, Skentou CA, Royston P. et al. Prediction of patient-specific risk of early preterm delivery using maternal history and sonographic measurement of cervical length: a population-based prospective study. Ultrasound Obstet. Gynecol. 2006; 27(4): 362-7.

Грек Л.

SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine"

Assistant of the Department of obstetrics, gynecology and perinatology Candidate of Medical Sciences

Грек Л.П.

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Асистент кафедри акушерства, гінекології та перинатології ФПО, кандидат медичних наук

PREDICTION OF CHRONIC PELVIS PAIN IN WOMEN WITH A GENIUSENDOMETRIOSIS WITH THE HELP OF MATHEMATICAL MODELING ПРОГНОЗУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ СИНДРОМУ ХРОНІЧНОГО ТАЗОВОГО БОЛЮ У ЖІНОК З ГЕНІТАЛЬНИМ ЕНДОМЕТРІОЗОМ ЗА ДОПОМОГОЮ МАТЕМАТИЧНОГО МОДЕЛЮВАННЯ

Анотація

Мета роботи розробити критерії прогнозу ймовірності трансформування СХТБ високого рівню у жінок з генітальним ендометріозом (ГЕ) у поєднанні з доброякісними захворюваннями геніталій (ДЗГ) за допомогою математичного моделювання, на підставі визначення найбільш значущих функціональних показників про- і проти запальних інтерлейкінів (IL - 10, IL - 6, TNF - α), психологічного статусу жінок, коморбідної патології, імуногістохімічних маркерів (ІГМ): рецепторів естрогенів (ER), прогестерону (PGR), індексу проліферації (Ki-67), васкулоендотеліального фактора росту (VEGF), циклооксигенази-2 (COX-2) в еутопічному ендометрії (ЕЕ), рівнем болю за ВАШ. На підставі отриманих даних, заданими ROC-аналізу можна прогнозувати важкий перебіг тазового болю, за достовірним факторами впливу у порядку убывання: «вісцеральний синдром» (ВШ 325,60 [95 % 3,93 - 26957,48]); високий рівень IL-6 (ВШ 2,29 [95 % 1,34 -

3,89)]; високий рівень TNF α (BII 1,53 [95 % 1,08 - 2,17]); високий рівень особистісної тривожності за шкалою Дж. Тейлора (BII 1,43 [95 % 1,10 - 1,86]); відповідно показникам чутливості - 95,5% і специфічності - 97,1%.

Abstract

The aim of work development prediction of chronic pelvic pain in women with a genius endometriosis in combination benign gynecological diseases with the help of mathematical modeling. Were determined the most signification functional indication balance pro- and antiinflammatory cytokines (IL-10, IL-6, TNF- α), psychological status of women, comorbid diseases, immunohistochemical markers ER, PGR, Ki-67, VEGF, COX-2, features and the level of pain on VAS.

From data of ROC - analysis it is possible to forecast the heavy end of pelvic pain, on the reliable factors of influence in order of decrease: "visceral syndrome" (OR 325,60 [95 % 3,93 - 26957,48]); high level of IL - 6 (OR 2,29 [95 % 1,34 - 3,89]); high level of TNF- α (OR 1,53 [95 % 1,08 - 2,17]); high level of personality anxiety a Teilor's Manifest Anxiety Scale (OR 1,43 [95 % 1,10 - 1,86]); in accordance to the indexes of sensitiveness - 95,5%, to specificity - 97,1%.

Ключові слова: генітальний ендометріоз, , хронічний тазовий біль, математичне моделювання.

Keywords: genital endometriosis, chronic pelvic pain, mathematical modeling.

Актуальність теми дослідження

Синдром хронічного тазового болю (СХТБ) є актуальною проблемою сучасної гінекології яка стосується фізіологічної, емоційної складової життя жінки, впливаючи на психологічний статус, сімейні стосунки, працездатність та соціальне функціонування [2,3,7]. Однією із головних гінекологічних причин СХТБ є генітальний ендометріоз, який зустрічається у 26-80% пацієнток гінекологічних стаціонарів [1,4,6,9].

Результати сучасних досліджень свідчать про роль центральної нервової системи (ЦНС), гормонально-ендокринних взаємовідносин і периферичних чинників, які можуть вплинути на больовий поріг при ендометріозі і його асоціацію з синдромом хронічного тазового болю (СХТБ) [10,12,14].

Ряд дослідників стверджують, що розвиток СХТБ при ендометріозі пов'язаний з наявністю запальної реакції, рубцово-злукровим процесом, феноменом мікроменструації, дією алгогенних чинників на специфічні больові рецептори, формуванням у вогнищах ендометріоза власної іннервації, з руйнуванням нервових структур внаслідок інвазивного зросту [16,20,21].

Про залежність інтенсивності болю, локалізацію та поширеність ендометріюїдних вогнищ, існують суперечливі дані. Багатьма дослідниками встановлено, що локалізація ендометріюїдних гетеротопій на крижово-маткових зв'язках, ректовагінальний перегородці викликає сильний біль в малому тазу, тоді як ендометріюїдні кісти є менш "болючими" і біль в даному випадку може виникати тільки при мікроперфорації кіст, викликаючи своєрідний "хімічний перитоніт" [16,17,18].

На думку Vercellini P. (2007), диспареунія відповідає інфільтративним вогнищам на крижово-маткових зв'язках і може супроводжуватися злукровим процесом, а нециклічні, спонтанні болі можуть відповідати залученню у патологічний процес кишечника та сечового міхура. [20,21].

Протягом останніх двох десятиріч відмічається тенденція до підвищення частоти поєднаних доброякісних захворювань геніталій (ДЗГ), що супроводжуються ХТБ. Так, за даним багатьох дослідників найбільш частою супутньою патологією ГЕ є лейоміома матки (ЛМ) у 80-85% випадків [4,8,11];

від 30 до 76,8% гіперплазія ендометрія (ГЭ) поєднується з ЛМ і АМ [7,11].

Проте слід зазначити, що наявність болю при різних формах генітального ендометріозу (ГЕ) у поєднанні з ДЗГ не завжди відповідає вираженості хвороби. Так, у пацієнток з абсолютно ідентичними формами ГЕ та ДЗГ больовий синдром буде варіювати від слабкого до нестерпного, а іноді зовсім може бути відсутнім [1,6, 10,11].

Незважаючи на різноманітні фактори виникнення СХТБ у теперішній час не запропоновано комплексного аналізу основних патогенетичних предикторів та способів прогнозування перебігу важкого хронічного тазового болю (за ВАШ) у жінок з ГЕ у поєднанні з ДЗГ.

Мета дослідження: розробити критерії прогнозу ймовірності трансформування СХТБ високого рівню у жінок з ГЕ у поєднанні з ДЗГ за допомогою математичного моделювання на підставі визначення найбільш значущих функціональних показників про- і протизапальних інтерлейкінів (IL - 10, IL - 6, TNF - α), психологічного статусу жінок, коморбідної патології, імуногістохімічних маркерів (ІГМ): рецепторів естрогенів (ER), прогестерона (PGR), індекса проліферації (Ki-67), васкулоендотеліального фактора росту (VEGF), циклооксигенази-2 (COX-2) в еутопічному ендометрії (ЕЕ).

Матеріали і методи для створення математичної моделі прогнозування трансформування СХТБ високого рівню були проаналізовані показники IL - 10, IL - 6, TNF - α та ІГМ у 120 жінок з ГЕ та поєднаними ДЗГ (лейоміома матки, гіперплазія ендометрія) у різних поєднаннях із СХТБ, які знаходилися на лікуванні в гінекологічному відділенні КЗ "Дніпропетровське клінічне об'єднання швидкої медичної допомоги" Дніпропетровської обласної ради, що є клінічною базою кафедри акушерства, гінекології і перинатології ФПО ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». Проведено: загальноклінічні, бактеріологічні, бактеріоскопічні дослідження. Для визначення рівнів цитокінів інтерлейкінів (IL) - 10, IL-6, туморнекротичного фактора- α (TNF- α) використовували набори реагентів для твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА) закритого акціонерного товариства "Вектор Бест". З

метою об'єктивізації больового синдрому використовувалася 10-бальна візуальна аналогова шкала (ВАШ). Першу клінічну групу (I) склали 44 пацієнтки з вираженим больовим синдромом (ВАШ – $8,28 \pm 0,23$ балів), другу клінічну групу (II) склали 41 пацієнтка, з помірно вираженим больовим синдромом (ВАШ – $5,44 \pm 0,12$ балів), третю клінічну групу (III) склали 35 пацієнток з безбольовим перебігом. Визначення експресії рецепторів стероїдних гормонів та біомаркерів шляхом проведення імуногістохімічних досліджень з загальною кількістю обстежених жінок ($n=120$) методом випадкової вибірки, за основними параметрами (віком, особливостями гінекологічного та соматичного анамнезу тощо) відібрано 30 жінок з 3-х груп. Це забезпечило отримання квотної репрезентативної вибірки для проведення додаткових, ресурсовитратних досліджень. З метою вивчення молекулярних механізмів розвитку СХТБ у пацієнток з ГЕ і ДЗМ визначали експресію ER, PGR, Ki-67, VEGF, COX-2, NF в еутопічному ендометрію. Морфологічний аналіз включав гістологічне дослідження мікропрепаратів ЕЕ, забарвлених за стандартною методикою гематоксиліном і еозином, та імуногістохімічне дослідження (на зрізах товщиною 4мкм відповідно до протоколів компанії-виробника TermoScientific (TS) (США) із використанням системи візуалізації Quanto та DAB Chromogen). Характер експресії імуногістохімічних маркерів аналізувався напівкількісним методом. Для Ki-67 підраховувався відсоток клітин із специфічним забарвленням із 100 клітин у не менш ніж 10 полях зору при збільшенні 400х. Для маркерів ER, PGR, спираючись на відсоток позитивних клітин та ступінь інтенсивності їх забарвлення (сла-

бкий (коефіцієнт ($k=1$), помірний ($k=2$), виражений ($k=3$)), розраховувався індекс H-score за формулою $[1 \times (\% \text{ клітин із } k=1) + 2 \times (\% \text{ клітин із } k=2) + 3 \times (\% \text{ клітин із } k=3)]$ [9]. За отриманим індексом випадки були розподілені на групу із низькою ($1+ = 100 > H > 0$), помірною ($2+ = 200 > H > 101$) та вираженою ($3+ = 300 > H > 201$) експресією. Характер реакції із VEGF, COX-2, оцінювались в залежності від відсотку забарвлених клітин, а саме: $1+$ (від 0% до 25%), $2+$ (26-50%), $3+$ (51-75%), $4+$ ($>75\%$). Експресія NF вважалась позитивною за умови забарвлення більше 5% клітин. Для статистичної обробки даних використовувались варіаційні методи параметричні та непараметричні методи статистики. Статистичну обробку проводили за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 6.1 (StatSoftInc., серійний № AGAR909E415822FA) та програмного пакету MedCalc Statistical Software trial version 17.4. (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2017).

Основні результати дослідження

Кореляційний аналіз виявив наявність зв'язків між морфологічними, імуногістохімічними (ER, PGR, Ki-67, VEGF, COX-2, NF) показниками в еутопічному ендометрії (ЕЕ) та рівнем болю по ВАШ. Під час формування хронічного больового синдрому велике значення має активація залозистого епітелію з підвищеною експресією (ER, PGR, Ki-67, COX-2) і стромі (PGR), гіперпластичні зміни (порушення проліферації та гіперплазії без атипії); підвищення рівня експресії Ki-67 ($p < 0,05$) і COX-2 ($p < 0,05$), як одного з них, так і в комбінації між собою (рис.1).

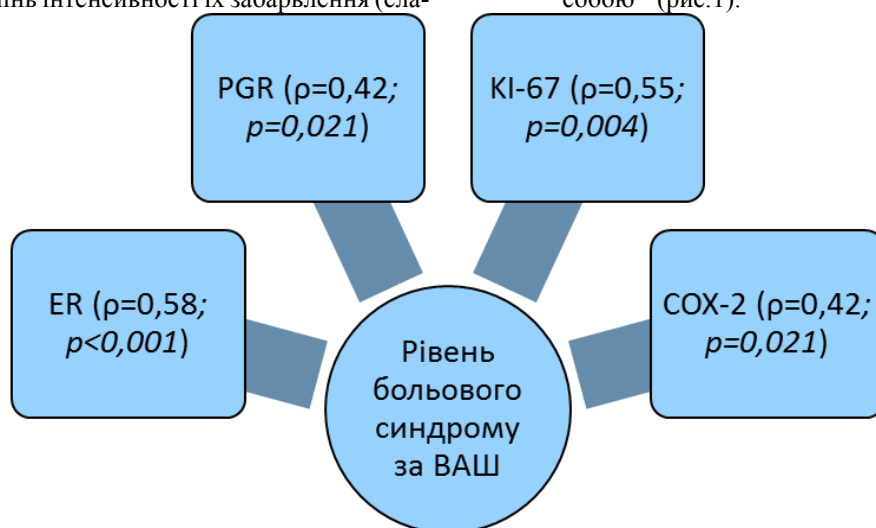


Рис. 1. Кореляційні зв'язки між рівнем больового синдрому за ВАШ та ІГХ характеристиками (за ранговим коефіцієнтом кореляції Спірмена – ρ)

Рівень активності COX-2 при СХТБ більшою мірою пов'язаний з контролем проліферації клітин ендометрія. Це підтверджується наявністю рангових кореляційних зв'язків між рівнем больового синдрому за ВАШ та ІГХ характеристиками спостерігаються його достовірні прямі зв'язки середньої сили з ER (коефіцієнт рангової кореляції Спірмена $\rho=0,58$; $p < 0,001$), з PGR ($\rho=0,42$; $p=0,021$), з Ki-67

($\rho=0,55$; $p=0,004$) та з COX-2 ($\rho=0,42$; $p=0,021$). Статистично значущого рангового кореляційного зв'язку між рівнем ВАШ та VEGF не виявлено ($\rho=0,23$; $p=0,217$).

Таким чином, морфологічна характеристика ЕЕ у жінок із СХТБ включає в себе гіперпластичні зміни (порушення проліферації та гіперплазію без атипії); підвищення рівня експресії Ki-67 ($p < 0,05$)

та COX-2 ($p<0,05$), як одного з них, так і в комбінації між собою. Під час формування больового синдрому більше значення має активація залозистого епітелію (за ER, PGR, Ki-67, COX-2,) та строми за PGR. Експресія NF визначалась у 1 випадку (3,33 %) із високим значенням ER, Ki-67, PGR, COX-2.

Проведена оцінка чинників виникнення «вісцерального синдрому» (ВС) як одного із компонентів СХТБ. Найчастіше ВС виявлявся у I-й групі – 85,0 % (95 % ДІ 63,96 - 94,76), що статистично достовірно вище ($p=0,004$) порівняно з II-ю групою – 37,5 % (95 % ДІ 21,16 - 57,29). Визначено, що «вісцеральний синдром» корелює з такою екстрагенітальною патологією, як захворювання шлунково-кишкового тракту (ШКТ) ($p=0,33$; $p<0,001$), сечостатевої системи ($p=0,26$; $p=0,004$) та залізодефіцитними станами внаслідок аномально маткових кровотеч (АМК) ($p=0,29$; $p=0,001$).

Спостерігається середньої сили прямий кореляційний зв'язок ВС з тривалістю СХТБ ($p=0,35$; $p<0,001$) та силою болю за ВАШ ($p=0,63$; $p<0,001$). ВС пов'язаний також з підвищеним рівнем тривожності ($p=0,50$; $p<0,001$) і депресії ($p=0,52$; $p<0,001$).

В зв'язку з цим представляється актуальним розглядати «вісцеральний синдром» не лише в рамках коморбідності з гінекологічною патологією, але із урахуванням рівнів больового синдрому, особистісної тривожності та депресивних розладів, що впливають на процес хронізації СХТБ у жінок з ГЕ.

Порівняння інформативності цитокінів та ІГХ характеристик у якості маркерів прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ у жінок з СХТБ проводилося ROC-аналізом з розрахунком стандартних операційних характеристик діагностичних моделей: чутливості (Se – sensitivity), специфічності (Sp – specificity), інтегральної характеристики - площі під ROC-кривою (area under ROC curve - AUC), яка показує залежність кількості правильно класифікованих випадків до кількості неправильно класифікованих з 95 % довірчим інтервалом (95 % ДІ).

Результати ROC-аналізу використання цитокінів та ІГХ характеристик для прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ у обстежених жінок з СХТБ наведено у таблиці 1.

Таблиця 1 Операційні характеристики цитокінів та ІГХ маркерів для прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ у обстежених жінок з СХТБ за даними ROC аналізу

Показники	Se, %	Sp, %	AUC	95 % ДІ AUC	p	точка відсікання
ІЛ-10	86,36	66,67	0,809	0,725 - 0,877	<0,001	>6,9
ІЛ-6	86,36	85,51	0,917	0,850 - 0,961	<0,001	>5,3
TNF- α	93,18	69,57	0,856	0,778 - 0,915	<0,001	>3,4
TNF- α / ІЛ-10	86,36	40,58	0,635	0,539 - 0,723	0,010	>0,33
ER	46,67	86,67	0,738	0,546 - 0,880	0,002	>2
PGR	46,67	86,67	0,727	0,534 - 0,872	0,007	>2
KI-67	100,00	46,15	0,772	0,567 - 0,912	0,004	>8
COX-2	60,00	80,00	0,747	0,555 - 0,887	0,005	>3
VEGF	40,00	86,67	0,567	0,374 - 0,745	0,536	>3

Примітки.

Se – Sensitivity – Чутливість;

Sp – Specificity – Специфічність;

AUC – Area Under Curve - площа під ROC-кривою;

p – рівень значущості AUC

В цілому цитокіни мають більш високі операційні характеристики, порівняно з ІГХ маркерами. Значення площі під ROC кривою для цитокінів у показниках діагностичної точності коливались від середнього рівня для TNF- α / ІЛ-10 (AUC=0,635; $p=0,010$) до відмінної у ІЛ-6 (AUC=0,917; $p<0,001$).

Попарне порівняння ROC кривих цитокінів

між собою (рис.2) показало наявність суттєвих розбіжностей ($p<0,05$) між ІЛ-6 та ІЛ-10, ІЛ-6 та TNF- α / ІЛ-10. Не виявлено статистично значущої різниці при порівнянні ROC кривих ІЛ-6 та TNF- α (різниця між AUC – 0,061; 95 % ДІ -0,013 – 0,136; $p=0,108$), отже у них практично однакові можливості щодо прогнозування високого рівня болю за ВАШ.

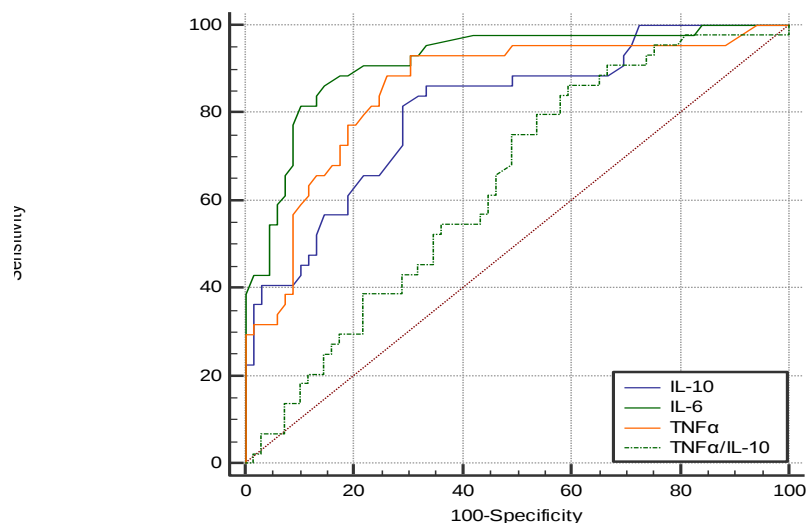


Рис. 2. Порівняння ROC кривих використання цитокінів для прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ у обстежених жінок з СХТБ

З проаналізованих маркерів (цитокінів та ІГХ характеристик) найбільш високі операційні харак-

теристики у ІЛ 6 – чутливість 86,36 %; специфічність 85,51 %; AUC=0,917 (95 % ДІ 0,850 - 0,961) (рис.3).

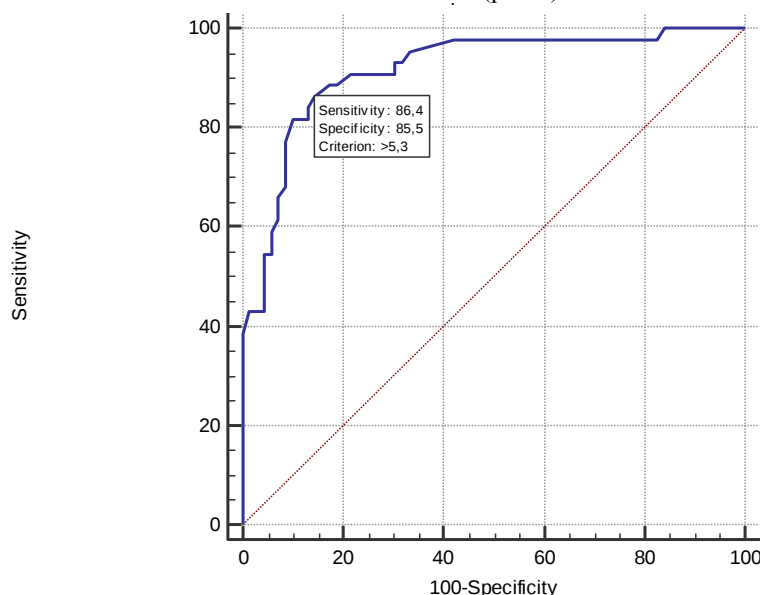


Рис.3. ROC - крива інтерлейкіну-6 для прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ у обстежених жінок з СХТБ

Трохи їй поступається без статистично значущої різниці TNF-α (AUC=0,856; $p<0,001$), площа під ROC кривою якого за загальноприйнятою класифікацією відноситься до дуже доброї

У всіх імуногістохімічних маркерів, окрім VEGF для якого не отримано достатньої прогностичної здатності ($p>0,05$), AUC для прогностичної здатності високого рівня ВАШ можуть бути охарактеризовані як добрі (рис.4), площі під ROC-кривою ER, PGR, KI-67 та COX-2 мають статистично достовірне значення ($p<0,05$). У більшості ІГХ

характеристик, окрім KI-67, щодо прогнозу високого рівня болю за ВАШ, невеликі рівні чутливості та достатньо високі рівні специфічності.

Попарне порівняння ROC кривих використання ІГХ маркерів для прогнозу високого рівню больового синдрому не показало суттєвих розбіжностей між ними (рис.4) та підтвердило їх добрі операційні характеристики.

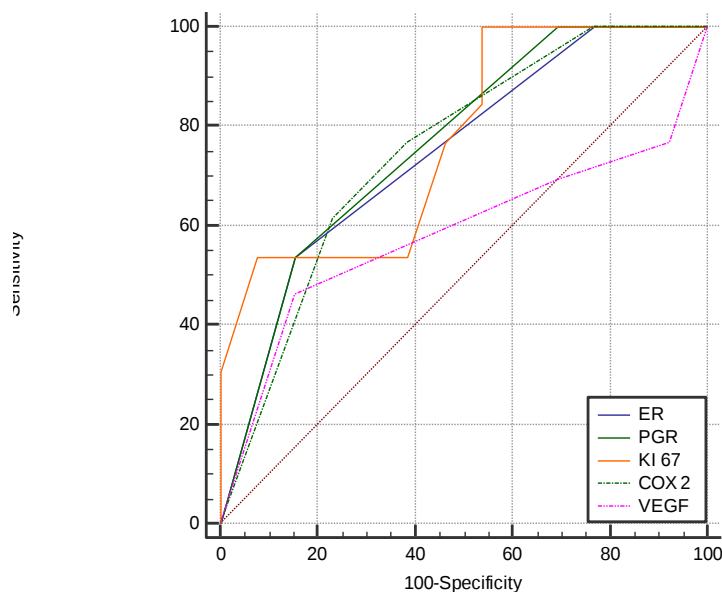


Рис.4. Порівняння ROC кривих використання ІГХ маркерів для прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ у обстежених жінок з СХТБ

Найкращим ІГХ маркером прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ за значення площі під ROC – кривою виявився KI-67: чутливість 100,0 % (відсутні помилково негативні результати); специфічність 46,15 % (збільшене число хибнопозитивних результатів); майже добігає до дуже хороших характеристик AUC=0,772 (95 % ДІ 0,567

- 0,912).

Парне порівняння ROC кривих KI-67 та IL-6 стосовно прогнозування високого рівню больового синдрому за ВАШ показало наявність суттєвих розбіжностей між ними (різниця між AUC – 0,201; 95 % ДІ 0,008 – 0,394; $p=0,041$) та підтвердило найкращі операційні характеристики IL-6 (рис.5).

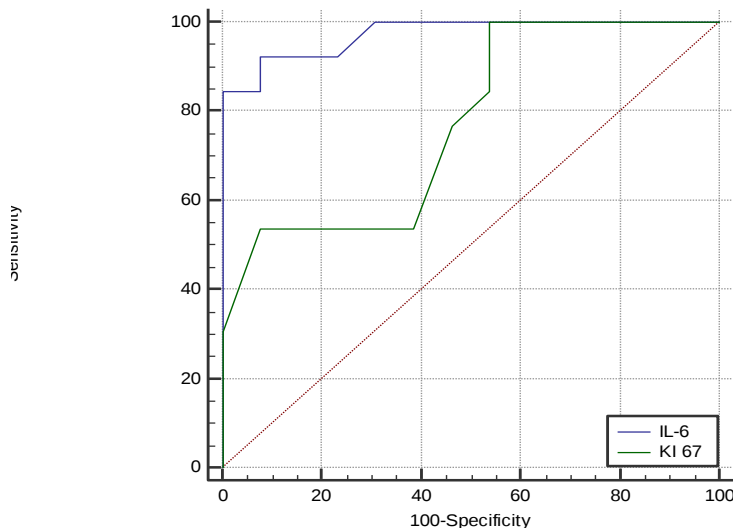


Рис.5. Порівняння ROC кривих використання KI-67 та IL-6 для прогнозу високого рівню больового синдрому за ВАШ у обстежених жінок з СХТБ

Порогове прогностичне значення цитокінів та ІГХ маркерів для прогнозування високого рівню больового синдрому за ВАШ визначалися за оптимальною точкою відсікання (optimal cut-off point) ROC-кривої (табл. 1). Оптимальна точка відсікання використовувалася у якості критичного рівня для розрахунку відношення шансів.

Для оцінки впливу досліджуваних факторів на больовий синдром помірної та важкої інтенсивності по ВАШ обчислювалося відношення шансів

(ВШ, OR) із 95 % довірчим інтервалом (95% ДІ). При включенні в аналіз факторів враховувалися дані попередніх досліджень. Відношення шансів (ВШ), яке дорівнює 1, означає відсутність ефекту. Значення ВШ від 0 до 1 відповідає зниженню ризику. ВШ більше 1 вказує на підвищений ризик. Чим більше відношення шансів, тим сильніше вплив чинника на розвиток порушення. При $p>0,05$ ВШ вважалися статистично не значимими і виключалися з аналізу у таблиці 2.

Таблиця 2 Оцінка факторів ризику розвитку синдрому хронічного тазового болю (за простим логістичним регресійним аналізом)

Фактори ризику	Больовий синдром помірної інтенсивності по ВАШ (4 - 10 балів)			Важкий больовий синдром по ВАШ (7-10 балів)		
	ВШ (OR)	95% ДІ	p	ВШ (OR)	95% ДІ	p
Тривалість захворювання більше 3-х років	5,67	2,00 – 16,03	0,001	1,48	0,69 - 3,16	0,309
Вік молодше 45 років	1,81	0,76 – 4,30	0,178	5,51	1,78 – 17,06	0,003
Вагітності в анамнезі	0,15	0,02 – 1,16	0,069	0,52	0,18 – 1,52	0,233
Пологи в анамнезі	0,16	0,04 – 0,72	0,017	0,46	0,19 – 1,11	0,084
Аборти в анамнезі	0,70	0,31 – 1,60	0,399	0,57	0,26 – 1,21	0,143
<i>Перенесені захворювання</i>						
Дитячі інфекційні захворювання	2,88	1,26 – 6,53	0,011	2,79	1,28 – 6,09	0,001
Herpes labialis	4,75	1,04 – 21,63	0,044	2,79	1,07 – 7,30	0,036
Chlamydia trachomatis	1,34	1,10 – 1,64	0,055	3,19	1,19 – 8,56	0,022
Trichomonas vaginalis	3,07	0,856 – 11,14	0,088	1,97	0,77 – 5,02	0,155
Candida albicans	0,59	0,26 – 1,32	0,200	1,17	0,54 – 2,54	0,700
HSV-2	2,13	0,10 – 45,41	0,629	0,33	0,02 – 7,13	0,483
<i>Гінекологічні захворювання</i>						
Аденоміоз	5,17	1,67 – 15,96	0,004	3,17	1,42 – 7,06	0,005
Лейоміома	0,13	0,03 – 0,58	0,008	0,36	0,15 – 0,85	0,020
Зовнішній ендометріоз	13,22	0,76 – 228,82	0,076	7,16	1,85 – 27,69	0,004
Функціональні кісти	5,05	0,63 – 40,74	0,128	0,54	0,14 – 2,13	0,382
Первинна дисменорея I	43,13	2,56 – 727,33	0,009	3,07	1,33 – 7,07	0,009
Вторинна дисменорея II	10,47	2,35 – 46,58	0,002	2,40	1,07 – 5,39	0,033
Спайковий процес	18,55	2,42 – 142,31	0,005	4,05	1,72 – 9,56	0,001
Невиношування вагітності	4,85	0,26 – 90,12	0,290	21,30	1,15 – 395,19	0,040
<i>Перенесені гінекологічні оперативні втручання</i>						
На маткових трубах	5,41	1,20 – 24,51	0,028	3,47	1,35 – 8,91	0,010
На матці	8,81	0,50 – 155,75	0,137	2,31	0,59 – 9,09	0,232
«Вісцеральний синдром»	33,38	1,97 - 564,36	0,015	108,33	13,77 - 852,13	<0,001
Наявні супутні екстрагенітальні патології	8,91	3,49 – 22,73	<0,001	55,27	3,28 – 931,97	0,005
Захворювання ШКТ	2,20	0,98 – 4,93	0,057	2,66	1,23 – 5,75	0,013
Хронічний тонзиліт	13,22	0,76 – 228,82	0,076	7,16	1,85 – 27,69	0,004
Захворювання сечостатевої системи	25,16	1,48 – 427,34	0,026	6,67	2,37 – 18,78	<0,001
Залізодефіцитна анемія	4,85	0,26 – 90,12	0,290	21,30	1,15 – 395,19	0,040
Рівень особистісної тривожності за шкалою Дж. Тейлора >10 балів	42,0	5,45 – 323,44	<0,001	25,33	8,94 – 71,77	<0,001

Рівень депресії за шкалою Гамільтона >9 балів	19,29	4,30 – 86,42	<0,001	19,38	7,21 – 52,12	<0,001
ІЛ-10 >6,9 пг/мл	1,24	0,52 – 2,91	0,626	12,67	4,68 – 34,29	<0,001
ІЛ-6 >5,3 пг/мл	6,44	2,06 – 20,15	0,001	37,37	12,55 – 111,27	<0,001
TNF- α >3,4 пг/мл	31,20	6,88 – 141,52	<0,001	31,24	8,69 – 112,30	<0,001
TNF- α / ІЛ-10 >0,33	10,71	4,02 – 28,49	<0,001	4,07	1,52 – 10,93	0,005
ER >2(++)	-	-	-	5,69	0,94 – 34,46	0,059
PGR >2(++)	-	-	-	5,69	0,94 – 34,46	0,059
KI-67>8 %	-	-	-	23,40	1,15 – 475,58	0,040
COX-2 >3(+++)	-	-	-	6,00	1,17 – 30,73	0,032
VEGF >3(+++)	-	-	-	4,33	0,71 – 26,53	0,113

Аденоміоз підвищує ризик больового синдрому як середнього (ВШ 5,17 [95% 1,67 – 15,96]), так і важкого ступеню (ВШ 3,17 [95% 1,42 – 7,06]). Таку ж саму направленість дії, але з вищими шансами на розвиток СХТБ мають зовнішній ендометріоз та дисменорея. Тривалість захворювання більше 3-х років підвищує шанси розвитку лише больового синдрому помірної інтенсивності (ВШ 5,67 [95% 2,00 – 16,03]), не впливаючи на тяжкий. Вік молодше 45 років, навпаки, підвищує шанси розвитку важкого больового синдрому (ВШ 5,51 [95% 1,78 – 17,06]).

Серед перенесених раніше урогенітальних інфекцій шансові переваги щодо підвищення ризику розвитку СХТБ мав хламідіоз, генітальний герпес, а також дитячі інфекційні захворювання, Herpes labialis. підвищували шанси появи важкого больового синдрому.

Перенесені гінекологічні оперативні втручання на маткових трубах підвищували шанси розвитку СХТБ. Невиношування вагітності суттєво підвищувало шанси розвитку важкого больового синдрому по ВАШ (ВШ 21,30 [95% 1,15 – 395,19]). Злуковий процесорганів малого тазу сприяв СХТБ помірної та тяжкої інтенсивності.

Суттєво підвищував шанси, як больового синдрому помірної інтенсивності, так і важкого, «вісцеральний синдром», при його наявності шанси розвитку СХТБ зростали відповідно в 33,38 [95 % ДІ 1,97 – 564,36] та 108,33 разів [95 % ДІ 13,77 – 852,13].

Властивостями щодо зниженню ризику розвитку больового синдрому помірної тяжкості виявили

вагітність тапологи у анамнезі (ВШ 0,16 [95% ДІ 0,04 – 0,72]).

Особистісна тривожність більша 10 балів за шкалою Дж. Тейлора та рівень депресії за шкалою Гамільтона більш 9 балів теж сприяли ризику розвитку СХТБ різного ступеню тяжкості.

Критичним рівнем цитокінів для підвищення ризику СХТБ виявилися: ІЛ-10 >6,9 пг/мл, ІЛ-6 >5,3 пг/мл, TNF- α >3,4 пг/мл та TNF- α / ІЛ-10 >0,33; вони підвищують ризик розвитку важкого больового синдрому відповідно в 12,67; 37,37; 31,24 та 4,07 разів.

Серед ІГХ маркерів на тяжкий СХТБ впливає підвищений рівень COX-2 >3(+++): ВШ=23,40 [95% 1,15 – 475,58] та KI-67>8 % (ВШ=6,00[95% 1,17 – 30,73]).

Таким чином при простому регресійному логістичному аналізі виявлено, що важкий больовий синдром при СХТБ (за ВАШ 7-10 балів) обумовлений впливом низки факторів (табл. 2), серед яких найбільший вплив на його розвиток здійснюють у порядку убутання: наявність «вісцерального синдрому»; наявність супутньої екстрагенітальні патологій; ІЛ-6 >5,3 пг/мл; TNF- α >3,4 пг/мл; рівень особистісної тривожності за шкалою Дж. Тейлора >10 балів; KI-67>8 %; невиношування вагітності; залізодефіцитна анемія; рівень депресії за шкалою Гамільтона >9 балів; ІЛ-10 >6,9 пг/мл; зовнішній ендометріоз; хронічний тонзиліт; захворювання сечостатевої системи; COX-2 >3(+++); вік молодше 45 років; TNF- α / ІЛ-10 >0,33; спайковий процес; перенесені оперативні втручання на трубах; хламідіоз; аденоміоз; дисменорея; перенесені дитячі інфек-

ційні захворювання; генітальний герпес, захворювання ШКТ; дисменорея та перенесені гінекологічні оперативні втручання.

При проведенні покрокового множинного логістичного регресійного аналізу виявлені достовірні фактори, що асоціювалися з тяжким больовим синдромом які можна включити у клінічні прогностичні моделі.

При розробленні прогностичної моделі за основу використане логістичне рівняння, яке передбачає, що несприятливий результат пов'язаний із факторами відповідно до формули:

$$y = \exp(\beta_0 + \beta_1 \cdot x_1 + \dots + \beta_n \cdot x_n) / [1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 \cdot x_1 + \dots + \beta_n \cdot x_n)] \quad (1),$$

де y – результат (важкий больовий синдром при СХТБ); β_0 – вільний член рівняння регресії; $\beta_1 - \beta_n$ – регресійні коефіцієнти; $x_1 - x_n$ – предикторні змінні (фактори).

Незалежно від регресійних коефіцієнтів чи величин x , передбачені значення (y) в цій моделі завжди будуть лежати в діапазоні від 0 до 1 (1 – важкий больовий синдром, 0 – відсутність больового синдрому). Якщо розрахована ймовірність матиме значення менше 0,5, то можна припустити, що подія не

настане (відсутність больового синдрому); в іншому випадку (ймовірність більше 0,5) передбачається настання важкого больового синдрому.

У процесі логістичного регресійного аналізу розраховувалися коефіцієнти регресії β , які описують зміну ризику важкого больового синдрому при зміні на одиницю визначеного фактору ризику, його помилку та статистику χ^2 Вальда. Розраховувалися також скориговані (очищені від впливу інших факторів) відношення шансів (ВШ) з 95% ДІ.

У нашій прогностичній моделі незалежною перемінною обрано важкий больовий синдром при СХТБ (за ВАШ 7-10 балів), залежними ординарними перемінними – прогностичні змінні, достовірні асоціації яких доведено при простому регресійному логістичному аналізі.

В результаті покрокового включення незалежних змінних отримані параметри рівняння логістичної регресії, представлені у таблиці 3 (в таблицю включено лише достовірно значущі фактори). Для кількісних предикторів показник в рівняння заноситься у отриманих значеннях одиниць виміру, для бінарних у вигляді 1- якщо присутній даний чинник, 0 – якщо відсутній.

Таблиця 3 Прогноз важкого СХТБ (ВАШ 7-10 балів) за даними покрокового множинного логістичного регресійного аналізу

Прогностичні змінні	β	m (β)	χ^2 Вальда	p χ^2 Вальда	ВШ	95% ДІ
Вільний член рівняння	-12,823					
«Вісцеральний синдром»	5,785	2,253	6,593	0,010	325,60	3,93 - 26957,48
TNF α	0,425	0,179	5,650	0,018	1,53	1,08 - 2,17
IL-6	0,827	0,271	9,296	0,002	2,29	1,34 - 3,89
Рівень особистісної тривожності за шкалою Дж. Тейлора	0,357	0,135	7,007	0,008	1,43	1,10 - 1,86

Враховуючі отримані дані, рівняння прогнозу важкого больового синдрому при СХТБ має вигляд: $y = \exp(-12,823 + 5,785 \cdot x_1 + 0,425 \cdot x_2 + 0,827 \cdot x_3 + 0,357 \cdot x_4) / [1 + \exp(-12,823 + 5,785 \cdot x_1 + 0,425 \cdot x_2 + 0,827 \cdot x_3 + 0,357 \cdot x_4)] \quad (2),$

де y – результат, що змінюється у діапазоні від 1 (важкий больовий синдром) до 0 (відсутність больового синдрому); $\beta_0 = -12,823$ – вільний член регресійного рівняння; x_1 – наявність «вісцерального синдрому» (1 – наявний, 0 – ні); x_2 – TNF α ; x_3 – IL-6; x_4 – рівень особистісної тривожності за шкалою Дж. Тейлора.

При отриманні для конкретної пацієнтки результату за рівнянням більше 0,5, можна робити прогноз про високий ризик важкого больового синдрому; при значенні до 0,5 включно – прогнозуємо сприятливий результат – відсутність больового синдрому.

За даними множинного логістичного регресійного аналізу, достовірні самостійні фактори ризику, згідно скоригованих, очищені від впливу інших факторів, відношення шансів в порядку убавання впливу, це: «вісцеральний синдром» (ВШ 325,60 [95 % 3,93 - 26957,48]); високий рівень IL-6 (ВШ 2,29 [95 % 1,34 - 3,89]); високий рівень TNF α (ВШ 1,53 [95 % 1,08 - 2,17]); високий рівень особистісної

тривожності за шкалою Дж. Тейлора (ВШ 1,43 [95 % 1,10 - 1,86]);

Оцінку прогностичної точності рівняння логістичної регресії проводили за значенням Хі-квадрат (χ^2); відсотком конкордації (concordant) – часткою правильно перекласифікованих за допомогою рівняння спостережень (чим ближче цей показник до 100 %, тим вище якість моделі); тесту згоди Хосмера-Лемешова та ROC-аналізу.

Оцінка рівняння логістичної регресії за значенням Хі-квадрат (χ^2) показала його адекватність: $\chi^2 = 125,42$ ($p < 0,001$). Частка вірного передбачення фактичної приналежності пацієнта до тієї чи іншої групи склала 95,58 %, що вказує на високу узгодженість реального розподілу спостережень та розподілу на підставі рівняння логістичної регресії. Загальна оцінка згоди реальних та розрахункових даних на підставі тесту Хосмера-Лемешова показала суттєвий їх збіг, оскільки $p = 0,930$, що дозволяє прийняти нульову гіпотези щодо узгодженості теоретичних та реальних результатів.

За формою ROC кривої і площі під нею (AUC) проводилася оцінка прогностичної точності рівняння логістичної регресії. Площа під ROC-кривою

показує залежність кількості правильно класифікованих випадків до кількості неправильно класифікованих випадків. Рівняння логістичної регресії має відмінні операційні характеристики (рис. 26) – чутливість 95,5 %, специфічність 97,1 %, площа під ROC кривою - 0,991 (95 % ДІ 0,952 -1,000), $p < 0,001$.

За даними ROC аналізу, враховуючи критичне значення точки відсікання (optimal cut-off value) для розрахованого за логістичним рівнянням результату, можна стверджувати, що прогнозувати підвищений ризик важкого больового синдрому у жінки ми можемо при отриманні значення за рівнянням $>0,310$.

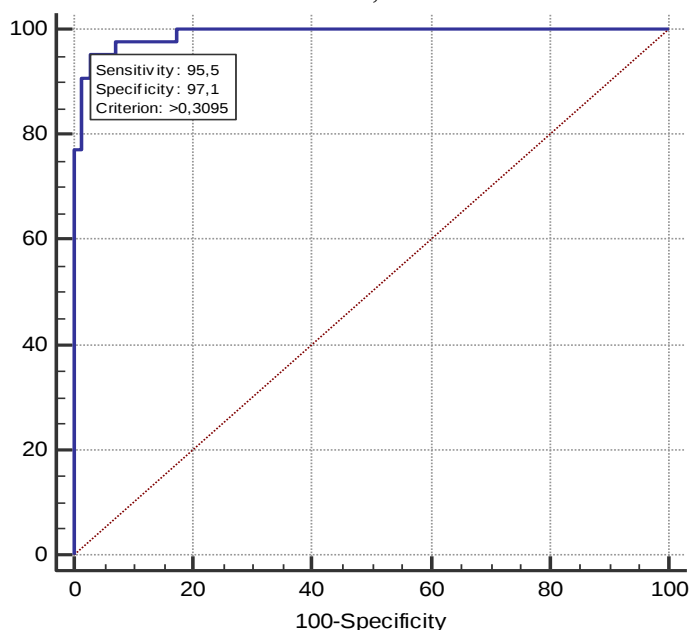


Рис. 26. Операційні характеристики, за даними ROC-аналізу, прогнозування важкого синдрому хронічного тазового больового, на підставі логістичного регресійного рівняння

ВИСНОВКИ

1. Проведено комплексне дослідження низки чинників, що сприяють розвитку важкого хронічного тазового больового синдрому при генітальному ендометріозі в поєднанні з ДЗГ.

2. На підставі отриманих даних, заданими ROC-аналізу, прогнозувати перебіг важкого тазового болю можна на підставі, визначених достовірно, факторів ризику в порядку убывання впливу: «вісцеральний синдром» (ВШ 325,60 [95 % 3,93 - 26957,48]); високий рівень IL-6 (ВШ 2,29 [95 % 1,34 - 3,89]); високий рівень TNF- α (ВШ 1,53 [95 % 1,08 - 2,17]); високий рівень особистісної тривожності за шкалою Дж. Тейлора (ВШ 1,43 [95 % 1,10 - 1,86]);

3. Розроблена модель прогнозування розвитку СХТБ важкого ступеня тяжкості у пацієнток з ГЕ в поєднанні з ДЗГ за наявністю «вісцерального синдрому», показників TNF- α , IL-6; рівнем особистісної тривожності за шкалою Дж. Тейлора, що відповідає показниками чутливості – 95,5% і специфічності – 97,1%.

4. Якщо логістичне рівняння прогностичної моделі [у] більше 0,5, можна робити прогноз про високий ризик важкого больового синдрому; при значенні до 0,5 включно – прогнозуємо сприятливий результат – відсутність больового синдрому.

5. Використання прогностичної моделі оцінки СХТБ важкого ступеня пацієнток з ГЕ в поєднанні з ДЗГ дозволяє своєчасно виявити групу ризику та призначити персоналізовані коригуючі засоби.

Література

1. Адамян, Л. В. Эндометриозы : Руководство для врачей / Л.В. Адамян, В.И. Кулаков, Е.Н. Андреева. — М.: Медицина, 2006. - Изд. 2-е, перераб. и доп. — 416 с.
2. Дубоссарская З.М. Репродуктивная эндокринология (перинатальные, акушерские и гинекологические аспекты): [учебно-методическое пособие] / З.М. Дубоссарская, Ю. А. Дубоссарская. — Д.: ЛираЛТД, 2008. — 415с.
3. Кузнецова И.В. Хроническая тазовая боль // Акушерство и гинекология. — 2013. — № 5. — С. 91-97.
4. Национальный консенсус по ведению пациенток с эндометриозом — 2015.
5. Сочетание миомы матки и аденомиоза / Т.Д. Гуриев, И.С. Сидорова, А.Л. Унанян]. — М.: ООО «МИА», 2012. — 256с.
6. Татарчук Т.Ф. Новые подходы к проблемным вопросам лечения генитального эндометриоза / Т.Ф. Татарчук, Н.Ф. Захаренко, Т.М. Тутченко // Репродуктивная эндокринология. — 2013. — №3 (11). С. 36 – 42
7. Чернуха, Г.Е. Эндометриоз и хроническая тазовая боль: причины и последствия / Г.Е. Чернуха // Проблемы репродукции. — 2011. — № 5. — С. 83-
8. Эндометриоз : диагностика, лечение и реабилитация : Клинические рекомендации по ведению больных / Л.В. Адамян [и др.]. — М., 2013. —

9. Яроцкая, Е.Л. Современные подходы к лечению больных с тазовыми болями в клинике оперативной гинекологии : дис ... д-ра мед. наук / Е.Л. Яроцкая. – М., 2004. – 379 с.
10. Chronic pelvic pain in women : etiology, pathogenesis and diagnostic approach / P. Vercellini [et al.] // Gynecol. Endocrinol. – 2009. – Vol. 25, № 3. – P. 149-158.
11. Coexistence of adenomyosis in women operated for benign gynecological diseases / B.Kumbak, Z. S. Özkan, H. Cilgin, M. Simsek. // Journal Gynecological Endocrinology. – 2012. – №28. – C. 212–215.
12. Different types of small nerve fibers in eutopic endometrium and myometrium in women with endometriosis / N. Tokushing [et al.] // Fertil. Steril. – 2007. – Vol. 88, № 4. – P. 795-803.
13. Giudice, L.C. Endometriosis / L.C. Giudice, S.E. Bulun // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 360. – P. 268-279.
14. Morotti M. Peripheral changes in endometriosis-associated pain/ M. Morotti, K.Vincent, J.Brawn, K.Zondervan, C.Becker//Hum Reprod Update. – 2014. – Vol. 20. – №5– P.717–736.
15. Nezhat C. Strong Association Between Endometriosis and Symptomatic Leiomyomas. [Электронный ресурс] / C. Nezhat, A. Li, S. Abed // JSLS. – 2016. – Режим доступа до ресурсу: Vol. Jul–Sep; № 20(3):e2016.00053.
16. Porpora, M.G. Correlation between endometriosis and pelvic pain / M.G. Porpora, P.R. Koninckx // J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc. – 1999. – Vol. 6, № 4. – P. 429-434.
17. Rectovaginal septum adenomyotic nodules: a series of 500 cases / J. Donnez [et al.] // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 1997. – Vol. 104, № 9. – P. 1014-1018.
18. Retroperitoneal endometriosis infiltrating the uterosacral ligaments. Technique and results of laparoscopic surgery / C. Chapron [et al.] // J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. – 1997. – Vol. 26, № 3. – P. 264-269.
19. Stratton P. Khachikyan I., Sinaii N., Ortiz R., Shah J. (2015) Association of chronic pelvic pain and endometriosis with signs of sensitization and myofascial pain. Obstet Gynecol., 3,719–728.
20. Vincent K. (2011). Pelvic pain in women: clinical and scientific aspects. Curr Opin Support Palliat Care. 5(2),143-9
21. Vercellini P. (2013) Chronic Pelvic Pain, p.196

Лятифова Нурана Фазил

Докторант

кафедры Биохимии, Азербайджанского Медицинского Университета

Меликова Арзу Давуд

Врач-лаборант

Клинико-биологической лаборатории, Азербайджанского Медицинского Университета

Эфендиев Ариф Мустафа.

Доктор биологических наук, профессор,

заведующий кафедры Биохимии, Азербайджанского Медицинского Университета

Lyatifova Nurana Fazil

Doctoral student

Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University

Melikova Arzu Davud

Physician-laboratory assistant

Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University

Afandiyev Arif M.

Doctor of Biological Sciences, Professor,

Head of the Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ НЕКОТОРЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТЕОПОРОЗА И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ.

STUDY OF THE ROLE OF CERTAIN ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN THE PATHOGENESIS OF OSTEOPOROSIS AND DIABETIC NEPHROPATHY.

Summary. The aim of this work is a comparative study of the concentration of calprotectin and catelicidin in patients with diabetes mellitus (DM) with diabetic nephropathy (DN) and complicated osteoporosis. The blood was studied of 82 patients with diabetes mellitus type 2. Patients were divided into 3 groups: 28 patients - without complications, 21 patients with DN and 24 patients with osteoporosis. The level of calprotectin and catelicidin was determined using an enzyme immunoassay (set: "Eastbiofarm"). The result of the study in all groups showed a statistically significant increase in serum levels of the level of calprotectin and catelicidin in comparison with the control. The greatest increase was found in calprotectin in patients with DN. Thus, the data suggest that calprotectin and catelicidin can be used as markers for determining the development of the disease and for determining the degree of damage to the kidneys and bone system.

Key words: diabetes, osteoporosis, diabetic nephropathy, calprotectin, catelicidin.

Аннотация. Целью настоящей работы является сравнительное изучение концентрации кальпротектина и кателицидина у больных сахарным диабетом (СД) с диабетическим нефропатией (ДН) и осложненным остеопорозом. Исследовано кровь 82 больных СД 2-го типа. Больные были подразделены на 3 группы: 28 больных - без осложнений, 21 больных ДН и 24 больных с остеопорозом. Уровень кальпротектина и кателицидина определяли с использованием иммуноферментного анализа (набор: "EastbioPharm"). Результаты исследования во всех группах наблюдалось статистически значимое повышение в сыворотке крови уровня кальпротектина и кателицидина по сравнению с контролем. Наибольшее повышение кальпротектина выявлено у больных с ДН. Таким образом, полученные данные предполагают, что кальпротектин и кателицидин можно использовать как маркерами определения развития болезни и для определения степени повреждения почек и костной системы.

Ключевые слова: сахарный диабет, остеопороз, диабетическая нефропатия, кальпротектин, кателицидин.

Сахарный диабет СД является одним из важнейших медико-социальных проблем здравоохранения. Согласно прогнозу Международной диабетической федерации, к 2030 году, число больных в мире достигнет 438 млн. Как известно, тяжесть заболевания, его прогноз и продолжительность жизни больных СД зависят от наличия и темпов прогрессирования сосудистых поражений. Метаболические нарушения, сосудистые и неврологические осложнения диабета приводят к развитию изменений практически всех органов и тканей, в том числе костной системы и почечной ткани. Одними из наиболее распространенным и тяжёлым осложнением СД являются диабетические нефропатии (ДН) и остеопороз [1,2].

В настоящее время одним из важнейших механизмов развития остеопороза и почечной недостаточности признаётся воспалительный процесс, который сопровождается активацией мононуклеаров, фагоцитов, лимфоцитов, а также других медиаторов воспаления. На фоне хронической гипергликемии происходит неферментативное гликолизирование белков, что инициирует повреждение базальной мембраны почечных клубочков и миграцию тромбоцитов, молекул адгезии в очаг воспаления. Активация провоспалительных механизмов в костной ткани при остеопорозе, может привести к снижению минеральной плотности костной ткани [3, 4,5]].

Определение роли антимикробных пептидов (АМП)— в развитии почечной патологии и остеопороза позволит, обосновать общность патогенетических процессов, лежащих в основе этих двух тяжёлых хронических заболеваний. Изучение АМП в механизме воспалительного процесса у больных ДН и остеопорозом имеет важное значение для разработки новых диагностических маркеров, определяющих степень развития этих патологий, а также для раннего выявления осложнений СД 2-го типа. Кроме бактерицидного эффекта, АМП обладают иммуномодуляторной и хемотаксической активностью, стимулируют хемотаксис макрофагов и нейтрофилов в очаг воспалительного процесса, уве-

личивают проводимость кровеносных сосудов, активируют протеазы и индуцируют апоптоз. При инфекции и воспалении, АМП стимулируют экспрессию некоторых цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-10) [6,7].

Целью работы явилось сравнительное изучение кальпротектина и кателицидина в развитии и прогрессировании ДН и остеопороза у больных сахарным диабетом 2 типа.

Материал и методы исследования. В исследование были включены 82 пациента с диагнозом СД 2 типа. У 28-и из не было выявлено признаков диабетической ангиопатии (I группа), у 21-ти из них поставлен диагноз ДН (II группа) и 33-и больных наблюдалось остеопороз (III группа). Контрольную группу составили 17 практически здоровых лиц.

У всех больных уровень гипергликемии определяли с помощью глюкозы и гликолизированного гемоглобина (HbA_{1c}). Концентрацию глюкозы определяли с помощью готового набора реактива фирмы «Human», содержание HbA_{1c}, - по методу Ю.А.Князева и соавт [8]. Для исследования содержания кальпротектина и кателицидина в сыворотке крови использовали иммуноферментный набор "EastbioPharm" для количественного определения.

Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики при помощи U-критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и исследование. У больных без диабетическими осложнениями (I группа) концентрация глюкозы и HbA_{1c}--на составили, соответственно, $8,6 \pm 0,3$ ммоль/л и $9,3 \pm 0,3\%$, что на 2,1 и 2,3 раза выше показателя контрольной группы. Во второй группе (ДН) уровень глюкозы и HbA_{1c},- достигает, соответственно до $10,3 \pm 0,6$ ммоль/л и $11,5 \pm 0,6\%$, в третьей группе (СД с остеопорозом) до $9,6 \pm 0,5$ ммоль/л и $10,3 \pm 0,9\%$. Как видно из результатов уровень глюкозы и HbA_{1c}, II группе повышается, соответственно в 2,2 и 2,3 раза ($p < 0,001$), а в III группе больных на 2,0 и 2,1 раза ($p < 0,001$) по отношению контроля (таблица 1).

Таблица 1. Изменения концентрации глюкозы и гликолизированного гемоглобина у больных с сахарным диабетом. (M±m), (минимум - максимум)

Показатели	Группы больных			
	Контроль (n=17)	Сахарный диабет (n=28)	Диабетическая нефропатия (n=21)	Сахарный диабет+ остеопороз (n=33)
Глюкоза, ммоль/л	4,7±0,1 (3,8-5,3)	8,6±0,3* (6,1-10,9)	10,3±0,6** (6,5-15,5)	9,6±0,5* (6,1-13,1)
HbA _{1c} , %	4,9±0,2 (3,9-5,8)	9,3±0,3* (7-13,5)	11,5±0,6** (6,7-16,4)	10,3±0,9* (4,9-15,5)

Примечание: * - $p < 0,05$ - по сравнению с контролем, ** - $p < 0,05$ - по сравнению значениями больных СД 2-го типа без диабетической ангиопатии

Результаты исследования содержания кальпротектина и кателицидина в крови пациентов СД были представлены в таблице 2.

Как видно из полученных результатов, в I группе пациентов СД 2-го типа содержание кальпротектина и кателицидина в крови достоверно превышало показателей больных в контрольной группе.

Уровень кальпротектина в сыворотке крови больных СД 2-го типа в I группе составило 201,4±10,3 нг/мл, в II группе 217,2±11,2 нг/мл, а в III группе 209,8±12,9 нг/мл. Как видно, из результатов уровень кальпротектина в сыворотке больных ДН повышается на 2,3 раза ($p < 0,001$), а у больных с остеопорозом на 2,2 раза, по сравнению с контролем (таблица 2)

Таблица 2. Изменения концентрации кальпротектина и кателицидина у больных с сахарным диабетом 2-го типа, (M±m), (минимум - максимум)

Показатели	Группы больных			
	Контроль (n=17)	Сахарный диабет (n=28)	Диабетическая нефропатия (n=21)	Сахарный диабет+ остеопороз (n=24)
Кальпротектин, нг/мл	95,5±2,0 (81,5-106,7)	201,4±10,3* (115,4-298,6)	217,2±11,2* (113,1-327,1)	209,8±12,9 (127,3-308,2)
Кателицин, мкг/мл	0,691±0,066 (0,176-1,01)	0,984±0,064* (0,52-1,8)	1,082±0,123* (0,27-2,51)	1,279±0,102* (0,17-2,85)

Примечание: * - $p < 0,05$ - по сравнению с контролем, ** - $p < 0,05$ - по сравнению значениями больных СД 2-го типа без диабетической ангиопатии

Кальпротектин (S100A8/S100A9) является гетерокомплексом кальцийсвязывающих белков, синтезируется нейтрофилах, моноцитах и в тканевых макрофагах, экспрессия его происходит при их активации и гибели, в том числе при эпителиальной адгезии. Кальпротектин, также синтезируется эндотелиальных и мезангиальных клетках почек и проявляет аутокринные и паракринные эффекты, приводит к прогрессированию воспалительного процесса. Таким образом, участвует в патогенезе воспалительных реакций и играет важную роль в развитии ДН. Он связываясь с TLR рецепторами моноцит/макрофагов, активирует медиаторов транскрипции и тем самым усиливает секрецию металлопротеиназ и воспалительных цитокинов. Кроме этого выявлено, что кальпротектин связываясь эндотелиальными клетками усиливает выход хемотактантов и приводит к повреждению, некрозу и апоптозу сосудов. Предполагается, что этот механизм может играть важную роль в патогенезе и в развитии остеопороза. Патологическое поражение мелких кровеносных сосудов, особенно капилляров в костной системе может вызывать ряд воспалительных реакций. Известно, что иммунные и костные клетки развиваются из гемопоэтических стволовых клеток костного мозга. Иммунные

клетки могут нарушать баланс между остеокластами и остеобластами путём выработки иммунорегуляторных цитокинов и АМП, которые влияют на дифференцировку клеток-предшественников [6,7,9,10].

Концентрация кателицидина в I группе составило 0,984±0,064 мкг/мл, что на 1,4 раза ($p < 0,01$) выше показателя контроля. Во II группе выявлено на 1,6 раза ($p < 0,01$) повышение уровня кателицидина по сравнению с контролем, в III группе повышение уровня кателицидина составило на 1,9 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Концентрация кателицидина II группе составило 1,082±0,123 мкг/мл, а в III группе 1,279±0,102 мкг/мл, против 0,691±0,066 мкг/мл в контрольной группе.

Кателицидины встречаются в составе специфических гранул нейтрофилов и помимо антимикробными защитными функциями, они обладают и иммунорегулирующими свойствами. Они являются хемотактантами иммунных клеток и реализуют миграцию нейтрофилов, моноцитов и Т клеток в очаг воспаления, способствует прогрессированию воспалительного процесса почек [11].

Таким образом, данные проведенных исследований показывают, что АМП играет существенную роль в метаболизме сосудистой системы и развитии хронического воспаления. В заключение, высокий

уровень кальпротектина и кателицидина у пациентов с диабетом 2 типа с ДН и остеопорозом, предполагает, что АМП имеют большое значение в патогенезе этих осложнений. Кальпротектин и кателицидин в сыворотке крови у больных СД могут быть использованы в качестве потенциальных биомаркеров воспаления, тяжести и прогрессирования диабетической нефропатии и остеопороза, а также для разработки новых терапевтических методов.

Литература

1. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Кремни-ская В.М. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете // Сахарный диабет. - 1999. - №1. - с.2-6.
 2. Schwartz A.V., Sellmeyer D.E. Diabetes, fracture, and bone fragility. Curr Osteoporos Rep. - 2007. - №3. - с. 105-11.
 3. Agrawal N.K., Kant S. Targeting inflammation in diabetes: Newer therapeutic options // World J Diabetes. -2014. - № 5. - p. 697-710.
 4. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a meta-analysis // Osteoporosis International. -2007. -№4. - с. 427-444
 5. Shan P.F.,Wu X.-P.,Zhang H. Bone mineral density and its relationship with body mass index in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus in mainland China // Journal of Bone and Mineral Metabolism. -2009. - №2. -с. 190-197
 6. Goyette J, Geczy C.L. Inflammation-associated S100 proteins: new mechanisms that regulate function // Amino Acids. - 2011. - № 1. - p. 821-42.
 7. Ryckman C.I., Vandal K., Rouleau P., Talbot M., Tessier P.A. Proinflammatory activities of S100: proteins S100A8, S100A9, and S100A8/A9 induce neutrophil chemotaxis and adhesion // J. Immunol. - 2003. - Mar 15. - № 6. - p.3233-42.
 8. Князев Ю.А., Вахрушева Л.Л., Сергеев Н.А. и др. Значение определения гликолизированного гемоглобина и лактата плазмы для характеристики состояния детей и подростков, больных сахарным диабетом // Педиатрия. - 1987. - №9. - С.62-64.
 9. Ruth J. Pepper, Hsu-Han Wang, Gayathri K. Rajakaruna, Eugenia Papakrivopoulou, et. al. S100A8/A9 (Calprotectin) Is Critical for Development of Glomerulonephritis and Promotes Inflammatory Leukocyte // Renal Cell Interactions. - 2015. - № 5. - p. 1264-1274
 10. Шепелькевич, А.П. Остеопороз – осложнение сахарного диабета, которому уделяется недостаточно внимания / А.П. Шепелькевич, О.В. Жуковская, О.А. Шакуля // Медицинский журнал. – 2008. – № 2. – С. 91–95
 11. Agerberth B., Charo J., Werr J., Olsson B. et al. The human antimicrobial and chemotactic peptides LL-37 and alpha-defensins are expressed by specific lymphocyte and monocyte populations // Blood, 2000. - № 9. - p. 3086-93.
- Мальчевский Юрий Евгеньевич,**
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник
НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН
- Рагимов Алигейдар Алекперович,**
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой «Анестезиологии и реаниматологии
лечебного факультета» ФППОВ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, заведующий Лабораторно Гемотрансфузиологическим комплексом
- Каспаров Эдуард Вильямович,**
доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ медицинских проблем Севера
ФИЦ КНЦ СО РАН

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ С СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ III – IV ФК ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ ПА В ПРОГРАММУ ЛЕЧЕНИЯ

Синдром хронической сердечной недостаточности (ХСН) может осложнять течение практически всех заболеваний сердечно-сосудистой системы. В последнее десятилетие были достигнуты существенные успехи в борьбе с этим недугом. С введением во врачебную практику современных методов терапии ишемической болезни сердца (ИБС), в частности хронической сердечной недостаточности, существенно снизилась летальность больных, но, тем не менее, она все равно остается недопустимо высокой. Отчасти это связано с увеличением частоты побочных реакций и осложнений в связи с проведением лекарственной терапии и недостаточным распространением хирургических методов лечения. Все это требует поиска новых подходов к решению этой проблемы. Одним из новых направлений в терапии болезней, в основе которых лежат нарушения липидного обмена и реологических свойств крови на протяжении последних лет

является внедрение методов гравитационной хирургии крови (1,2,3,4,5,6, 9,12,13). Так, плазмаферез (ПА) позволяет расширить возможности при оказании лечебной помощи больным с ИБС (3,6,7,8). Использование ПА при ГСЗ основано, прежде всего, на дезинтоксикационном, заместительном действии, улучшении реологических свойств крови (3,7,9,11).

Целью настоящего исследования явилось изучение морфофункциональных показателей сердца у больных ИБС с сердечной недостаточностью III – IV ФК при включении плазмафереза в состав традиционной медикаментозной терапии.

Материалы и методы исследований.

Под наблюдением находилось 67 больных ИБС с сердечной недостаточностью III – IV функционального класса (ФК) (по классификации NYHA - New York Heart Association), проходивших лечение в больнице №... г. Красноярск ?, 49 – лиц

мужского пола и 18 женщин, возраст пациентов - от 55 до 75 лет.

У 53 больных в анамнезе отмечен перенесенный инфаркт миокарда (ИМ), из которых у 32 – ИМ отмечен один раз, у 17 больных – два ИМ и 5 пациентов перенесли трижды ИМ. Из 67 больных СН у 46 был поставлен диагноз ИБС СН III ФК, у 21 пациента – диагностирована ИБС СН – IV ФК. У 33 больных в анамнезе был сахарный диабет (СД) II типа, 42 пациента имели в анамнезе гипертоническую болезнь II-III ст по классификации (ВОЗ), у 31 пациента отмечен избыточный вес с индексом массы тела (ИМТ) равным и больше 32.

Пациенты данной группы наряду с традиционной терапией (бета-блокаторы, нитраты, ингибиторы АПФ, диуретики, сердечные гликозиды – дигоксин, антиагреганты и др) получали 2 - 4 сеанса ПА через день (у некоторых пациентов с СН IV ФК и у части пациентов СН III ФК в зависимости от тяжести болезни сеансы ПА проводились через каждые 2 - 3 дня). Длительность болезни у больных данной группы составила от 2 лет до 27 лет. Продолжительность лечения в стационаре составила приблизительно 3 недели (от 2 до 4 недель). Всем пациентам данной группы назначена диета №10 по Певзнеру.

Во вторую группу вошли 29 больных с диагнозом ИБС СН III-IV ФК, в возрасте 54 - 75 лет, из которых 20 мужчин и 9 женщин с давностью болезни от 3 до 26 лет. У 20 больных диагностирована СН III ФК, у 9 – IV ФК. 12 пациентов в анамнезе имели СД II типа, у 17 больных в анамнезе отмечена ГБ II - III ст (ВОЗ). Пациентам данной группы лечение проводили традиционным методом - медикаментозное лечение (диуретики, ингибиторы АПФ, сердечные гликозиды - дигоксин, бета-блокаторы, антиагреганты, нитраты, блокаторы кальциевых каналов). Продолжительность лечения в стационаре, так же как и в первой группе, составила приблизительно 3 недели (от 2 до 4 недель). Всем пациентам данной группы назначена диета №10 по Певзнеру.

Плазмаферез проводили на аппарате Haemonetic (США). За сеанс удаляли от 25 % до 50% и выше объема циркулирующей плазмы (ОЦП).

Расчет конкретного объема удаляемой плазмы производили на основании антропометрических показателей.

С этой целью по методике Мооре определялся объем циркулирующей крови (ОЦК) по данным о массе тела, конституционального типа и средних величин количества крови на кг массы тела (А.А.Бунятян, 1982): $ОЦК = M \times C_k$, где «М» - масса тела в кг; «С_к» - среднее количество крови в мл на кг массы тела в зависимости от пола и типа телосложения (у женщин от 55 до 70 мл/кг, у мужчин от 60 до 75 мл/кг). Затем по расчетному ОЦК определяли ОЦП: $ОЦП = ОЦК \times (100\% - \Gamma_r)$.

Удаляемый объем плазмы возмещали кристаллоидными растворами (физиологическим раство-

ром хлорида натрия, раствором Рингера) и, или коллоидными растворами (реополиглюкин, 5% альбумин, и др.).

До лечения и в различные периоды после начала лечения – через неделю, 1 месяц и 6 месяцев больным проводили клиническое, лабораторное и инструментальное обследование (ЭКГ и ЭхоКГ).

Сравниваемые группы не различались по возрасту, функциональному классу стенокардии (ФК СН), длительности лечения, по сопутствующим болезням.

При обработке результатов нами использованы программы для электронной таблицы Microsoft 2000 для Windows 2000, а также пакет статистических программ "Statistica".

Результаты исследований

Исследование исходных параметров ЭхоКГ у больных ИБС СН III-IV ФК леченных комбинированным методом выявило снижение диастолической и систолической функций миокарда, Таблица 1. Установлено повышение конечно диастолического объема (КДО), конечно систолического объема (КСО), размеров левого предсердия (ЛП), снижение отношения Ve/Va (эквиваленты диастолической дисфункции миокарда) и снижение ударного объема (УО) и фракции выброса (ФВ), свидетельствующие о систолической дисфункции сердца.

Небольшое улучшение систолической и диастолической функций сердца отмечается в первые сутки после ПА при комбинированной терапии. В первые сутки после ПА установлено достоверное повышение УО, отношения Ve/Va , соответственно на 6,9 % и 8,5 % и снижение времени изоволюмического расслабления (ВИР) на 8,4 %. К седьмым суткам после начала комбинированной терапии наблюдается снижение КСО и КДО на 15,0 % и 10,3 % и ВИР – на 10,4%, $P < 0,05 - 0,001$, повышается также Ve на 9,8 % ($0,54 \pm 0,098$ м/с) и отношение Ve/Va на 16,4 % ($1,122 \pm 0,188$), $P < 0,001$, подтверждающие улучшение диастолической функции сердца. УО и ФВ отмечены выше исходных значений на 9,0 % и 14,9, соответственно ($82,1 \pm 15,6$ мл и $57,0 \pm 18,8$ %), $P < 0,05$. Через месяц после терапии КСО, КДО, ВИР установлены ниже исходных значений на 17,7 %, 14,8 % и на 11,4 %, соответственно, УО, ФВ и отношение Ve/Va - выше исходных значений соответственно, на 15,8%, 19,2% и 22,2%, составляя $87,2 \pm 16,4$ мл, $59,1 \pm 18,0$ % и $1,178 \pm 0,196$, соответственно, $P < 0,001$. Через 6 месяцев КДО, КСО и ВИР продолжали оставаться ниже исходных показателей на 14,8 %, 13,4 % и 9,2 %, составляя соответственно, $67,6 \pm 18,0$ мл, $134,6 \pm 29,5$ мл и $90,6 \pm 20,5$, $P < 0,001$. Ve и отношение Ve/Va составили $0,552 \pm 0,074$ м/с и $1,142 \pm 0,205$, что на 12,2 % и 18,5% больше исходных показателей. УО сердца был выше исходных значений на 13,3 % ($85,3 \pm 16,4$ мл), $P < 0,001$.

Показатель Ve и отношение Ve/Va оставались такими же, как через месяц после начала лечения данные параметры были выше исходных величин на 12,2 % и 18,5%.

Таблица 1

Показатели ЭхоКГ при включении ПА в программу лечения больных постинфарктным кардиосклерозом, осложненным сердечной недостаточностью III - IV ФК (N=67)

Параметры	Исходные показатели	После ПА	Δ_0	Через 7 сут.	Δ_0	Через 1 мес.	Δ_0	Через 6 мес.	Δ_0
КСО (мл)	79,3±16,4 ***	79,8±18,0 ***	0,6	67,4±20,5 *** ^^^	-15,0	65,3±17,2 *** ^^^	-17,7	67,6±18,0 *** ^^^	-14,8
КДО (мл)	155,4±32,7 ***	157,2±36,0 ***	1,2	139,4±34,4 *** ^	-10,3	132,4±29,5 *** ^^^	-14,8	134,6±29,5 *** ^^^	-13,4
УО (мл)	75,3±15,6 ***	80,5±13,1 ***^	6,9	82,1±15,6 *** ^	9,0	87,2±16,4 *** ^^^	15,8	85,3±16,4 *** ^^^	13,3
ФВ (%)	49,6±16,4 **	53,3±18,0	7,5	57,0±18,8 ^	14,9	59,1±18,0 ^^	19,2	55,2±18,0	11,3
ЛП (мл)	41,4±13,9 **	41,2±16,4 **	-0,5	39,4±15,6 *	-4,8	38,7±15,6 *	-6,5	39,8±16,4 *	-3,9
Ve (м/с)	0,492±0,098	0,512±0,090	4,1	0,540±0,098 ***^	9,8	0,568±0,074 *** ^^^	15,4	0,552±0,074 *** ^^^	12,2
Va (м/с)	0,506±0,082 ***	0,492±0,090 ***	-2,8	0,482±0,082 ***	-4,7	0,483±0,082 ***	-4,5	0,481±0,082 ***	-4,9
Ve/Va	0,964±0,156 ***	1,046±0,188 ***^	8,5	1,122±0,188 *** ^^^	16,4	1,178±0,196 *** ^^^	22,2	1,142±0,205 *** ^^^	18,5
ВИР (мс)	99,8±16,4 **	91,4±21,3 ^	-8,4	89,4±21,3 ^^	-10,4	88,4±20,5 ^^	-11,4	90,6±20,5 ^^	-9,2

Прим.: статистически значимая разница:

- с нормативными показателями: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$
- с исходными показателями: ^ – $p_0 < 0,05$; ^^ – $p_0 < 0,01$; ^^^ – $p_0 < 0,001$

Сравнительный анализ двух методов терапии комбинированной и традиционной, Таблица 2, показал более благоприятные результаты при комбинированной терапии. Сравнение изучаемых параметров через 7 дней после терапии выявило более низкие значения КСО и КДО при комбинированном лечении, которые были ниже показателей, выявленных при традиционном лечении на 14,8 % и 11,3 %, составляя 67,4 ± 20,5 мл и 139,4 ± 34,4 мл, $P < 0,05-0,01$. Установлено повышение ФВ и отношения Ve/Va соответственно на 17,3 % и 14,0 %, (57, ± 18,8 % и 1,122 ± 0,205), $P < 0,05$. Через месяц после начала терапии значения КСО и КДО были ниже аналогичных показателей у пациентов леченных

традиционными методами на 13,3 % и 8,9% составляя соответственно, 65,3 ± 17,2 мл и 132,4 ± 29,5 мл, $P < 0,05-0,01$, а показатели Ve и Ve/Va установлены выше соответствующих показателей, установленных при традиционной терапии на 7,2% и 8,3%, составляя 0,568 ± 0,074 м/с и 1,178 ± 0,196, $P < 0,05$. Через 6 месяцев терапии КСО и КДО в группе пациентов с комбинированным лечением установлены 67,6 ± 18,0 мл и 134,6 ± 29,5 мл, что на 12,4% и 11% ниже, чем при традиционной терапии $P < 0,05$, а значения Ve и Ve/Va были на 8,0 % и 8,6 % выше показателей отмеченных при лечении традиционным методом, $P < 0,01-0,05$.

Таблица 2

Показатели ЭхоКГ у больных с постинфарктным кардиосклерозом, осложненным сердечной недостаточностью III - IV ФК при традиционном лечении и включении ПА в программу лечения (M±m)

Параметры	Традиционное лечение N = 29			Лечение с применением ПА N = 67					
	Через 7 дней	Через 1 мес	Через 6 мес.	Через 7 дней	Δ_s	Через 1 мес	Δ_s	Через 6 мес.	Δ_s
КСО (мл)	79,1±13,5	75,3±11,8	77,2±12,4	67,4±20,5##	-14,8	65,3±17,2##	-13,3	67,6±18,0#	-12,4
КДО (мл)	157,2±29,6	145,3±28,0	151,2±29,1	139,4±34,4#	-11,3	132,4±29,5#	-8,9	134,6±29,5#	-11,0
УО (мл)	80,5±19,4	83,4±18,8	80,5±19,4	82,1±15,6	2,0	87,2±16,4	4,6	85,3±16,4	6,0
ФВ (%)	48,6±11,8	53,4±14,5	49,2±15,1	57,0±18,8#	17,3	59,1±18,0	10,7	55,2±18,0	12,2
ЛП (мл)	41,4±9,2	40,2±8,1	41,4±8,1	39,4±15,6	-4,8	38,7±15,6	-3,7	39,8±16,4	-3,9
Ve (м/с)	0,511±0,054	0,530±0,059	0,511±0,059	0,540±0,098	5,7	0,568±0,074#	7,2	0,552±0,074##	8,0
Va (м/с)	0,502±0,054	0,492±0,059	0,493±0,059	0,482±0,082	-4,0	0,483±0,082	-1,8	0,481±0,082	-2,4
Ve/Va	0,984±0,081	1,088±0,108	1,052±0,102	1,122±0,188###	14,0	1,178±0,196#	8,3	1,142±0,205#	8,6
ВИР (мс)	94,5±14,5	93,6±15,1	94,7±15,6	89,4±21,3	-5,4	88,4±20,5	-5,6	90,6±20,5	-4,3

Прим.: статистически значимая разница с показателями группы сравнения:

– $p_s < 0,05$; ## – $p_s < 0,01$; ### – $p_s < 0,001$

Обсуждение результатов исследования.

Как показано выше, исходные параметры сердца у больных с сердечной недостаточностью

III-IV ФК, полученные при помощи ЭхоКГ выявили снижение систолической и диастолической функ-

ции миокарда относительно показателей характерных для контрольной группы – установлено снижение ударного объема УО, ФВ, Ve/Va и повышение КСО, КДО, Va , ВИР.

Включение ПА в программу лечения больных ИБС СН III-IV ФК существенно улучшило все основные параметры, характеризующие структуру и функции миокарда. Эффективность ПА в программе терапии пациентов с СН III-IV ФК начинает проявляться в первые сутки после начала комбинированной терапии. После ПА наблюдается повышение УО, показателя Ve/Va и снижение ВИР, что демонстрирует положительное влияние ПА на систолическую и диастолическую функции сердца. Заметные изменения систоло-диастолической функций миокарда наблюдаются через неделю после начала терапии комбинированным методом. К этому периоду наблюдается достоверное снижение КСО, КДО и ВИР на 15,0%, 10,3 % и 10,4 %, соответственно и повышение Ve и отношение Ve/Va соответственно, на 9,8 % и 16,4 %. Улучшение систолической функции миокарда проявляется повышением УО и ФВ, которые становятся выше исходных значений на 9,0 % и 14,9, соответственно ($82,1 \pm 15,6$ мл и $57,0 \pm 18,8$ %).

Через месяц после терапии показатели отражающие морфофункциональные свойства миокарда остаются стабильными, приблизительно такими же, как через неделю, после терапии. КСО, КДО, ВИР установлены ниже исходных значений на 17,7 %, 14,8 % и на 11,4 %, соответственно, УО, ФВ и отношение Ve/Va – выше исходных значений соответственно, на 15,8%, 19,2% и 22,2%.

Выявленные в предыдущие периоды благоприятные изменения основных показателей морфологии и функции сердца остаются до конца периода наблюдений – через 6 месяцев после начала комбинированной терапии. В эти КСО, КДО и ВИР ниже исходных значений соответственно, на 14,8 %, 13,4% и 9,2%, а УО, Ve , Ve/Va – достоверно выше исходных значений.

При сравнении между собой эффективности комбинированной и традиционной терапии сердечной недостаточности III-IV ФК получены более благоприятные результаты при комбинированной терапии. Через неделю после начала терапии показатели КСО и КДО установлены ниже аналогичных показателей в группе с традиционным лечением на 14,8 % и 11,3 %, а ФВ и отношение Ve/Va были выше соответственно на 17,3 % и 14,0 %. Полученная разница в эффективности исследуемых методов терапии сохранялась через месяц и 6 месяцев после начала терапии. Через месяц после терапии значения КСО и КДО зафиксированы ниже, чем в группе пациентов с традиционным лечением на 13,3 % и 8,9%, через 6 месяцев указанные показатели оставались ниже аналогичных показателей при традиционной терапии на 12,4% и 11%. Ve и Ve/Va установлены выше соответствующих показателей, установленных при традиционной терапии на 7,2% и 8,3% - через месяц и на 8,0 % и 8,6 % через 6 месяцев наблюдений.

Итак, включение ПА в программу лечения больных ИБС СН III-IV ФК существенно улучшило все основные параметры характеризующие струк-

туру и функции миокарда. При этом, положительный эффект ПА проявляется на самых ранних этапах лечения и продолжает оставаться в течение длительного периода – 6 месяцев. Показано, что включение плазмафереза в программу лечения исследуемых пациентов существенно повышает эффективность лечения, улучшая параметры как систолической так и диастолической функций сердца.

Список литературы.

1. Коновалов Г.А., Ведерников А.Ю., Олферьев А.М., Кухарчук В.В. Сравнительный анализ плазмафереза и каскадной плазмофильтрации в лечении больных с наследственной гиперхолестеринемией. Тер. арх. 1987; 11: 84-87.
2. Коновалов Г.А. Экстракорпоральные методы афереза липопротеидов низкой плотности в лечении больных с тяжелыми формами наследственной гиперхолестеринемии. Автореф. дисс. д.м.н. М., 1989.
3. Коноплева Л.Ф., Ена Я.М., Карпенко В.В., Сушко Е.А. и др. Влияние сочетанного применения гемосорбции и плазмафереза на гемореологические и гемодинамические показатели у больных гипертонической болезнью. Клини. мед. 1992; 1: 54-56.
4. Кухарчук В.В., Коновалов Г.А., Курданов Х.А., Перова Н.В. и др. Опыт длительного (4-12 мес.) применения плазмафереза у больных с наследственной гиперхолестеринемией. Кардиология 1986; 10: 19-21.
5. Кириченко Л.Л., Порунова А.К., Смирнов В.В., Радзевич А.Э. и др. Состояние тромбоцитарного звена гемостаза и микроциркуляции у больных ишемической болезнью сердца при лечении плазмаферезом. Кардиология 1989; 12: 85-90.
6. Кириченко Л.Л., Лекомахер С.С., Порунова А.К., Смирнов В.В. и др. Состояние липидного обмена, агрегации тромбоцитов и микроциркуляции у больных со стенокардией в процессе лечения плазмаферезом. Кардиология 1990; 8: 10-14.
7. Козлов В.А. Плазмаферез. В кн.: Эфферентные методы в медицине. М. 1989; 264-80.
8. Легконогов А.В., Хеймец Г.И., Кухарчук В.В., Куценко А.И. и др. Клиническая и гемодинамическая оценка эффективности плазмафереза при высокой артериальной гипертонии, рефрактерной к медикаментозным средствам лечения. Тер. арх. 1988; 5: 80-85.
9. Лекомахер С.С. Действие гравитационной хирургии крови на метаболизм липидов у больных ишемической болезнью сердца. Гематология и трансфузиология 1991; 9: 8-10.
10. Мальгинов С.В., Заруба А.Ю., Куценко А.И., Елисеев А.О., Рахмедов Д.Р., Кухарчук В.В. Применение плазмафереза в комплексном лечении больных нестабильной стенокардией. Тер. арх. 1991; 10: 131-133.
11. Betteridge D.J., Bakowski M., Taylor K.G., Beckless J.P.D. et al. Treatment of severe diabetic and hypertriglyceridaemia by plasma exchange. Lancet 1978; 1: 1368.
12. Ludvigsson J., Heding L., Liden G., Marber B et al. Plasmapheresis in the initial treatment of insulin-dependent diabetes mellitus in children. Br. Med. J. 1983; 286: 176-178.
13. Thompson G.R. Plasma exchange for familial hypercholesterolemia. Lancet 1981; 1: 1246-1248.

Denga A.E., the candidate of medical Sciences
State Establishment "The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine"

Pyndus T.A., the candidate of medical Sciences
Lviv medical institute

Denga E.M., candidate of physical and mathematical Sciences
State Establishment "The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine"

Деньга Анастасия Эдуардовна,
кандидат медицинских наук
Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии
Национальной академии медицинских наук Украины»

Пиндус Татьяна Алексеевна
Львовский медицинский институт

Деньга Эдуард Михайлович,
кандидат физико-математических наук
Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии
Национальной академии медицинских наук Украины»

DENSITOMETRIC INDICATORS OF BONE QUALITY OF PATIENTS WITH CHRONIC GENERALIZED PERIODONTITIS ON THE BACKGROUND OF METABOLIC SYNDROME

ДЕНСИТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА КОСТИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Summary

Introduction. The disorders that are components of the metabolic syndrome lie at the basis of the mechanism of development mechanism of many pathological processes in the body.

Purpose of the study. The aim of this work was to study the densitometric parameters of the heel bone quality of patients with a combination of chronic generalized periodontitis and metabolic syndrome.

Materials and methods. Patients with a diagnosis of chronic generalized periodontitis and metabolic syndrome took part in the study. Patients of the main group received a treatment and prophylactic complex 2 times a year, normalizing fat metabolism, reducing cholesterol, normalizing metabolism and strengthening resistance of the organism. The ultrasonic densitometer "SONOST 2000" was used to evaluate the propagation velocity in the bone of an ultrasonic wave, the attenuation of an ultrasonic wave in the 1 MHz band, and the bone quality index.

Results. Conclusions. With this combined pathology, there was a slight decrease in bone mineral density, a significant deterioration in its architectonics and, as a consequence, a deterioration in bone quality. The conducted therapeutic and prophylactic therapy in the main group of patients led to a certain increase in bone mineralization, to a significant improvement in its architectonics and, as a consequence, to the improvement of bone quality.

Key words: bone metabolism, chronic generalized periodontitis, metabolic syndrome, densitometry.

Аннотация. Оценка денситометрических показателей костных тканей пациентов с хроническим генерализованным пародонитом и метаболическим синдромом свидетельствует о том, что при данной сочетанной патологии уменьшение минеральной плотности кости незначительно (показатель SOS меньше нормы на 1,8%). В тоже время сочетанная патология хронический генерализованный пародонит и метаболический синдром оказала существенное влияние на структуру пяточной кости, ухудшение ее архитектоники (показатель BUA по сравнению с нормой оказалось ниже на 47%) и как следствие на ухудшение индекса качества кости (показатель BQI ниже нормы на 33%). Проведенная комплексная лечебно-профилактическая терапия в основной группе пациентов привела к незначительному увеличению минерализации кости (показатель SOS увеличился на 1,5%), к существенному улучшению структуры кости, ее архитектоники (показатель BUA увеличился на 22,7 %), и как следствие к улучшению качества кости (показатель BQI увеличился на 19,5 %).

Ключевые слова: костный метаболизм, хронический генерализованный пародонит, метаболический синдром, денситометрия.

Нарушения, которые являются составляющими метаболического синдрома (МС), лежат в основе механизма развития многих патологических процессов в организме. Органы и ткани полости рта, в частности пародонт и костные ткани, также вовлекаются в патологический процесс при этом. Воспалительно-дистрофические изменения в пародонте находятся в прямой зависимости от таких

факторов, как нарушение жирового и углеводного обмена, сосудистых нарушений, являющихся основными составляющими МС [1-4], приводящих также к нарушению костного метаболизма [5-6].

Целью данной работы было исследование по пяточной кости пациентов денситометрических показателей качества костной ткани при сочетании хронического генерализованного пародонита

(ХГП) и метаболического синдрома в процессе лечебно-профилактических мероприятий.

Материалы и методы. В данном исследовании принимало участие 37 человек возраста 30-55 лет с диагнозом хронический генерализованный пародонтит и метаболический синдром (21 человек – основная группа, 16 человек – группа сравнения). Пациенты группы сравнения получали только базовую терапию (санация полости рта и профессиональная гигиена). Пациенты основной группы дополнительно получали 2 раза в году разработанный лечебно-профилактический комплекс, включающий препараты нормализующие жировой обмен и усвоение жиров и белков («Сера актив»), снижающие холестерин и уменьшающие проницаемость сосудов («Хлорофиллин»), нормализующие обмен веществ и усиливающие резистентность организма («Лактусан», «Квертулидон»), регулирующие липидный обмен и выводящие токсины из организма («Оксифит мап»), а также зубные пасты «Lacalut флора» (противовоспалительный эффект) и «Имидж» (эффект микронного очищения). При этом у пациентов оценивались в пяточной кости скорость распространения ультразвуковой волны (SOS), широкополосное затухание ультразвуковой волны в кости (BUA) и индекс качества кости (BQI). В указанных исследованиях использовался ультразвуковой денситометр «SONOST 2000» [7] (Южная Корея). Денситометрические исследования проводились в исходном состоянии и через год наблюдений.

Результаты и обсуждение. Нарушения в организме при МС и ХГП обменных процессов, микрососудистые и макрососудистые осложнения при этом способствуют нарушению и костного метаболизма [8-11]. Качество костной ткани определяется архитектоникой кости, включая её геометрию (микроархитектура и макроархитектура), свойствами материала, включая минерализацию его и коллагеновые связи, микроповреждения и микроструктурные разрывы. Скорость распространения ультразвуковой волны (SOS) в кости определяется в первую очередь плотностью костных тканей и их минерализацией. Широкополосное затухание ультразвуковой волны (BUA) определяется в первую очередь рассеиванием и отражением волны в пяточной кости, связанных с её структурой и архитектоникой. В полноценной кости более высокочастотные колебания ультразвука затухают сильнее, чем низкочастотные колебания, так как длина волны их приближается к размерам существующих структурных параметров кости, и они сильнее рассеиваются и отражаются, чем более длинноволновые низкочастотные волны, способные за счет дифракции огибать костные трабекулы.

Результаты проведенного исследования основных денситометрических показателей качества кости у пациентов, участвовавших в этом исследовании, и их изменение под действием лечебно-профилактического комплекса приведены в таблице 1.

Таблица 1 Денситометрические показатели качества кости у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и метаболическим синдромом, М±m

Сроки наблюд. Показатели	Исходное состояние		Через 1 год наблюдения		Среднестат. норма [12]
	Группа сравнения, n=16	Основная группа, n=21	Группа сравнения, n=15	Основная группа, n=20	
SOS, м/с	1538,1±12,5	1535,2±9,3p>0,1	1540,5±11,3	1559±8,1p=0,08	1563,4±10,3
BUA, дБ/МГц	28,5±3,1	29,2±3,2p>0,1	27,9±4,1	41,7±3,5p=0,01	55,2±4,1
BQI, усл. ед.	66,4±4,9	65,8±5,3p>0,1	68,3±5,1	84,5±5,7p<0,05	97,7±5,9

Примечание: p – показатель достоверности отличий от группы сравнения.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у пациентов с ХГП и МС скорость ультразвуковой волны в пяточной кости всего на 1,8 % ниже среднестатистической нормы (табл. 1). Это свидетельствует о том, что сочетанная патология ХГП и МС не существенно повлияла на общую минерализацию костных тканей наших пациентов. Проведенные 2 раза в году в основной группе комплексные лечебно-профилактические мероприятия за 1 год увеличили величину SOS в основной группе пациентов на 1,5 %.

В тоже время показатель затухания ультразвуковой волны в пяточной кости на разных частотах (BUA) пациентов с ХГП и МС, характеризующий архитектонику кости, оказался ниже нормы на 47% (табл. 1.), что свидетельствует о значительных изменениях при этом в структуре костных тканей, связанных с остеопенией и остеопорозом. Эти процессы приводят к увеличению расстояния между трабекулами кости, уменьшению их по толщине,

что приводит в свою очередь к увеличению рассеивания и отражения распространяющихся в кости низкочастотных ультразвуковых волн (уменьшается явление огибания волной трабекул за счет явления дифракции). Увеличение затухания в кости ультразвуковой волны на низких частотах приводит к уменьшению градиента ослабления волны на низких и высоких частотах и, следовательно, уменьшению BUA. Проведение лечебно-профилактических мероприятий 2 раза в году привело к увеличению за год наблюдений в основной группе пациентов индекса BUA в 1,42 раза (на 22,7 %), что свидетельствует об определенном улучшении структуры костных тканей.

Индекс качества кости BQI является производной величиной от SOS и BUA, рассчитывается за программным микропроцессором и представляет собой интегральную характеристику качества кости. В исходном состоянии у пациентов с ХГП и МС индекс BQI был на 33 % ниже нормы, а

в результате лечебно-профилактических мероприятий он увеличился в основной группе пациентов за год наблюдений на 19,5 %. Очевидно, что увеличение индекса BQI определялось в первую очередь увеличением при этом индекса BUA, то есть улучшением архитектоники кости.

Выводы. Оценка денситометрических показателей костных тканей пациентов с ХГП и МС свидетельствует о том, что при данной сочетанной патологии уменьшение минеральной плотности кости было незначительно (SOS меньше нормы на 1,8 %). В тоже время сочетанная патология ХГП и МС оказала существенное влияние на структуру пяточной кости, ее архитектуру (индекс BUA оказался ниже на 47 % по сравнению с нормой) и, как следствие, приводила к уменьшению индекса качества кости BQI на 33%. Проведенная комплексная лечебно-профилактическая терапия в основной группе пациентов с ХГП и МС привела к незначительному увеличению минерализации кости (индекс SOS увеличился на 1,5%), к существенному улучшению структуры кости, ее архитектоники (индекс BUA увеличился на 22,7 %), и, как следствие, к улучшению качества кости (индекс BQI увеличился на 19,5 %).

Список литературы

1. **Eckel R. H., Grundy S. M., Zimmet P. Z.** The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365:1415–28.
2. **Grundy S. M.** Metabolic syndrome scientific statement by the American Heart Association and the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2243–2244.
3. **Fukui N., Shimazaki Y., Shinagawa T., Yamashita Y.** Periodontal status and metabolic syndrome in middle-aged Japanese. *J Periodontol* 2012;83:1363–1371
4. **Muszkopf M. L., Daudt L. D., Weidlich P., Gerchman F., Gross J. L., Oppermann R. V.** Metabolic syndrome as a risk indicator for periodontal disease and tooth loss. *Clin Oral Investig*. 2017 Mar;21(2):675–683.
5. **Hygum K., Starup-Linde J., Harsløf T., Vestergaard P., Langdahl B. L.** “Mechanisms in endocrinology: diabetes mellitus, a state of low bone turnover - a systematic review and meta-analysis,” *European Journal of Endocrinology*, vol. 176, pp. R137–R157, 2017.
6. **Yamamoto M., Sugimoto T.** “Advanced glycation end products, diabetes, and bone strength,” *Current Osteoporosis Reports*, vol. 14, pp. 320–326, 2016.
7. Sonost 2000, User’s manual // Strumentazione Medica [Электронный ресурс]. – 2017. – Режим доступа: http://www.strumedical.com/admin/allegati/126-Sonost_2000%20%20manuale%20pdf.pdf – Дата доступа: 10.02.2017.
8. **Farr J. N., Khosla S.** “Determinants of bone strength and quality in diabetes mellitus in humans,” *Bone*. 2016; vol. 82:28–34.
9. **Nelson D. A., Jacobson S. J.** “Why do older women with diabetes have an increased fracture risk?” *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2001;vol. 86:29–31.
10. **Melton 3rd L. J., Leibson C. L., Achenbach S. J., Therneau T. M., Khosla S.**, “Fracture risk in type 2 diabetes: update of a population-based study,” *Journal of Bone and Mineral Research*. 2008;vol. 23:1334–1342.
11. **Greco E. A., Fornari R., Rossi F., et al.** “Is obesity protective for osteoporosis? Evaluation of bone mineral density in individuals with high body mass index” *International Journal of Clinical Practice*. 2010; vol. 64:817–820,.
12. **Drogomyretska M. S.** Pathogenetic principles of orthodontic treatment of tooth-maxillary anomalies in adults with periodontitis in the context of atherosclerosis and hypoestrogenemia. Doctor’s thesis. Odessa. 2010; 334 p. (in Ukrainian).

Mikhanovskii A. A.

Doctor of Medical Sciences, professor

State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology NAMS National Academy of Sciences of Ukraine »,

Kochina M. L.,

Doctor of Biological Sciences, professor

Petro Mohyla Black Sea National University,

Kharchenko Yu. V.

State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology NAMS National Academy of Sciences of Ukraine »,

Shchyt N. M.

State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology NAMS National Academy of Sciences of Ukraine »,

Fedorenko N. V.

State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology NAMS National Academy of Sciences of Ukraine »

MOLECULAR-BIOLOGICAL FACTORS OF RISK OF RECURRENCE AND METASTASES DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER OF THE III-IV STAGES

Abstract. The study presents the results of studying the molecular-biological markers of ovarian tumors in patients with the III-IV stages of (T3a-cNxM0-1) disease. It is shown that a high level of mt p53 after conducting non-adjuvant polychemotherapy indicates the presence of chemo-resistant tumor cells. Lack of expression of VEGF, Bcl-2 and mt p53 at a moderate level (4-40%) of Ki-67 indicates a risk of generalization of the process. High expression of the proliferative activity (Ki67), in combination with the lack of expression of VEGF and Bcl-2, may indicate a high risk of locomotor retinitis, but no expression of VEGF, Bcl-2 and mt p53, or weak positive expression of mt p53 in combination with weak positive Ki67 expression may indicate a risk of marker recurrence.

Keywords: ovarian cancer, molecular-biological tumor markers, recurrence, metastases.

Introduction. According to epidemiological studies in recent decades, there is a marked tendency to increase the incidence of ovaries malignant tumors in women. The risk of contracting ovarian cancer (OC) during life is 1.5%, and one in 100 women may die of this disease [1]. Ovarian tumor is the cause of disability, which determines the social and economic aspects of this pathology.

According to the combined data of population cancer registries in Europe, one-year survival rate of OC patients is 63%, those who live three years comprise 41%, those who live five years make up 35%. At the same time, if the disease is detected on the early stages, the five-year survival rate is 60-100%, and then at stages III and I its value do not exceed 10%. Moreover, the proportion of the I-II stages of OC accounts for 31.9% of the first identified patients, while the common forms make up 68.1% of observations. Among patients who were first diagnosed at the III and IV stages, 37.2% and 27.0% respectively [2].

Analysis of recent publications. Despite numerous epidemiological studies, the etiology of OC remains not clearly stated. Hormonal, genetic factors, as well as the state of the environment play an important role in the development of the OC [3, 4].

It is now known that malignant neoplasms are causing damage to the genetic apparatus in the terminal and somatic cells, which makes these cells sensitive to external carcinogenic factors capable of triggering malignancy. Depending on which cell the primary mutation occurred to the sex or somatic, the cancer may be hereditary or sporadic [5].

There are more than 100 proteins and / or genes which alternations can be found in malignant cells.

Each tumor is unique in a set of disorders involved in carcinogenesis. Such disorders, found in tumor tissue, are called molecular-biological markers (MBM) of tumors.

By definition, MBM of tumors are certain chromosomal and gene mutations, as well as expressions of various molecules that are qualitative or quantitative specific changes in the tumor and are involved in the development and progression of malignant diseases.

Significant theoretical and practical interest is the study of markers that characterize apoptosis, cell proliferation and angiogenesis, which include p53, Bcl-2, Ki67 and VEGF proteins [6]. MBMs characterize different properties of malignant tumors and can be used to predict the risk of OC recurrence and metastases.

The purpose of the study is to assess the relationship between the level of expression of the tumor MBM and the occurrence of OC recurrence.

Material and methods. We studied MBM of ovarian tumors in 75 patients with the III-IV stages of OC (T3a-cNxM0-1). The age of the surveyed OC patients was from 23 to 77 years. There were 4 (5.3%) patients younger than 30 years old and 3 (4%) patients older 70 years.

Depending on the type of combination treatment, the patients were divided into groups. The first group consisted of 46 (61.3%) patients whose treatment was started with non-adjuvant polychemotherapy (NPCT) with subsequent surgical treatment. The second group comprised 29 (38.7%) patients who were first surgically treated and then received adjuvant polychemotherapy (APCT).

Among all the surveyed patients there were 54 (72%) persons with the III stage of OC and 21 (28%)

people with the IV stage. The majority of patients with the III (T3a-cNxM0) and the IV (T3a-cNxM1) stages of OC were at the age of 50-60 years old.

Depending on the histological structure of the tumor, 43 (57.3%) patients had serous cystadenocarcinoma, 3 (4%) of these patients had endometrioid carcinoma and 6 (8%) of them had mucinous carcinoma; 14 (18.7%) patients had undifferentiated tumor, and 4 (5.3%) patients had poorly differentiated carcinoma; germinogenic tumors occurred in 2 (2.7%) patients, light cell illness was in 1 (1.3%) patient; in two cases (2.7%) the morphological structure of the tumor was not identified because of pronounced therapeutic pathomorphosis.

The criteria for predicting biological aggressiveness of tumors were studied using a marker of proliferative activity Ki67 (Mib-1) and markers of apoptosis

Bcl-2 (124) and mt p53 with the use of primary monoclonal antibodies (MCAT), Rady-to-Use. The evaluation of tumor neoangiogenesis was performed by determining the vascular endothelial growth factor (VEGF).

As a result of the research, it was found out that in the first group patients treated with NPHT there was no expression of VEGF in the tumor in 46.4% of cases and Ki67 in 41.3% of cases, high level of mt p53 expression (50-100%) was observed in 41.3% of patients, Bcl-2 was detected in 52.2% of patients (Fig. 1).

In tumors of the majority of second group patients, there was no expression of Bcl-2 (in 60.7% of patients) and mt p53 (in 44.8% of patients) with proliferative activity level (Ki67) (4- 40%), which was observed in 58.6% of patients. A high level of VEGF expression was observed in 53.8% of cases (Fig. 2).

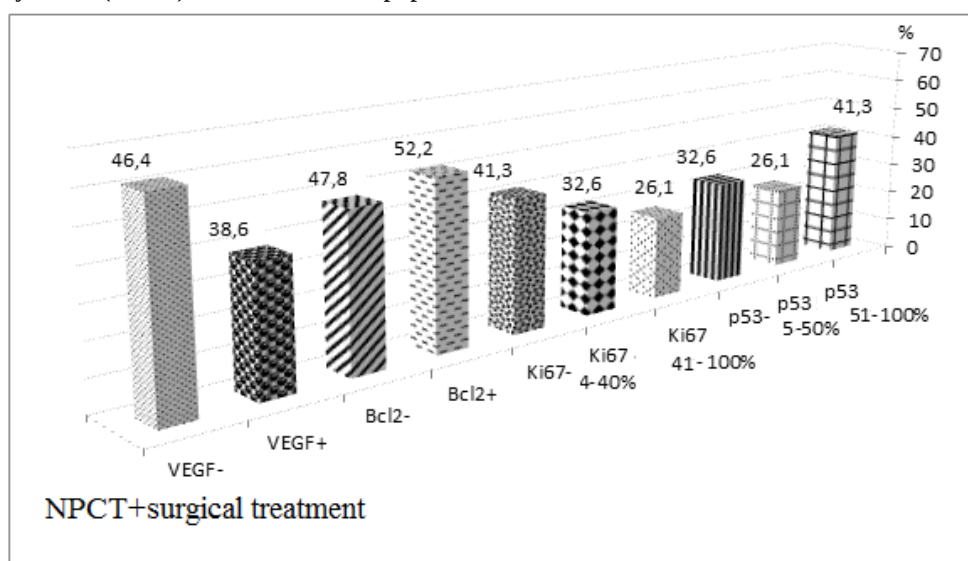


Figure 1 – Distribution of the first group patients with OC of the III-IV stages depending on the MBM level of expression in the tumor.

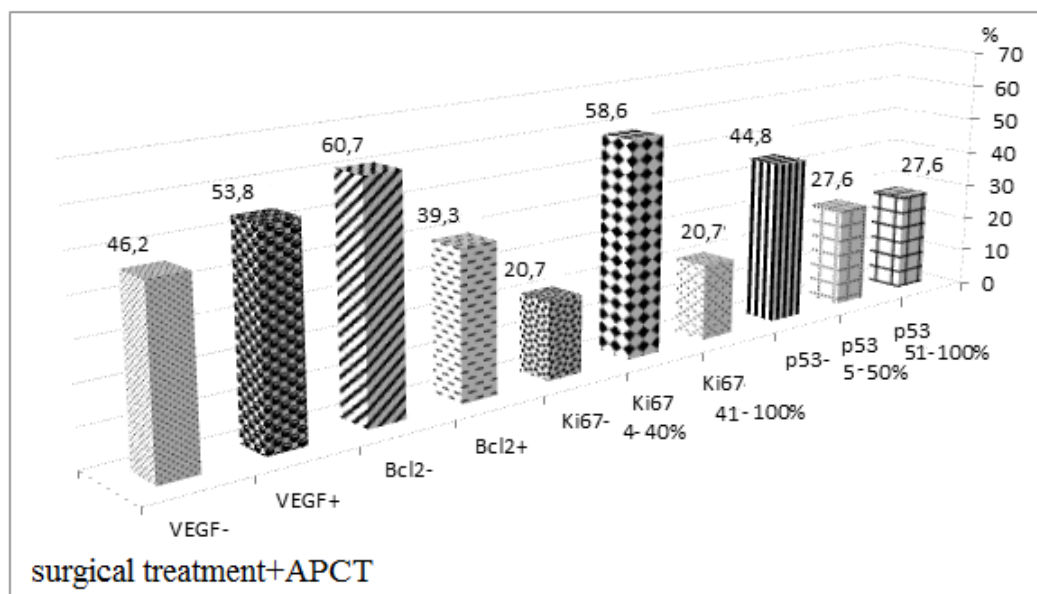


Figure 2 – Distribution of the second group patients with OC of the III-IV stages depending on the MBM level of expression in the tumor.

During the observation period, recurrence of the disease was detected in 32 (42.7%) patients from 75.

Distribution of patients with recurrence depending on the stage of the disease is shown in Table 1.

Table 1 Distribution of OC patients with recurrence of the disease depending on the stage

Stage of the disease	OC patients with recurrence of the disease (n = 32)	
	absolute	%
III	26	48,1±9,8
IV	6	28,6±18,5

Distribution of patients depending on the type of recurrence is shown in Table 2.

Table 2 Distribution of OC patients depending on the type of recurrence, (%)

Type of OC recurrence	OC stage	
	III (T3a-cNxM0) (n = 26)	IV (T3a-cNxM1) (n = 6)
Generalization of the abdominal cavity with/ or distant metastases	13(50±9,8)	2(33,3±19,2)
Loco-regional recurrence	7(27±8,6)	2(33,3±19,2)
Marker recurrence	6 (23±8,3)*	2(33,3±19,2)
Total	26 (100)	6 (100)

Note: * - Differences in incidence of generalization of abdominal cavity or distant metastases and marker recurrence are reliable according to criterion χ^2 ($p < 0,05$).

The data presented in Table 2 indicate that the most common cases of recurrences in OC patients with the III stage were generalization of the abdominal cavity with / or distant metastases (in the lungs, liver, inguinal lymph nodes). In the group with the IV stage of the disease, all types of recurrences occurred in the same percentage of cases. The presence of marker recurrence was established on the basis of increase in the value of the serum marker CA-125 from the achieved as a result of treatment of normal levels, after the end of treatment.

In the study of the level of MBM expression in OC patients of the first group, in which the recurrence of the disease was detected, negative VEGF values were observed in 70% of cases, and its positive values were observed in 30% of patients. Expression of Bcl-2 was absent in 60% of patients, and proliferative activity (Ki67) – in 55% of patients. Expression of mt p53 and its absence was detected in the same frequency.

The study of MBM expression in OC patients of the second recurrence group showed that the negative VEGF was observed in 55.6% of patients, and the lack

of expression of Bcl-2 was observed in 72.7% of patients. Expression of mt p53 was observed and absent in the same percentage of cases (50%). In 66.6% of patients, proliferative activity (Ki67) was moderate (in the range of 4-40%).

When comparing two groups of OC patients with the III-IV stages of recurrence, in both groups there were patients with no expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) (70% and 55.6% respectively), as well as expression of Bcl-2 (60 % and 72.7% respectively). The level of expression of the indicator of proliferative activity (Ki67) was different. In patients of the first group, its expression was absent in 55% of cases, and in patients of the second group 66.6% of patients had moderate expression (in the range of 4-40%). The mt p53 level of expression in the first group patients was not significantly different; in patients of the second group 50% of the apoptosis marker expression was absent.

Table 3-6 shows the distribution of patients depending on the level of MBM expression and the presence of recurrence of the disease.

Table 3 Distribution of OC patients with the III-IV stages in terms of mt p53 expression depending on the presence of recurrence

mt p53 expression, %	Result of the disease	
	without recurrence (n = 63)	with recurrence (n = 9)
0	22 (35 ± 6,0)	4 (44 ± 16,5)
5 – 50	20 (32 ± 5,9)	1 (12 ± 9,7)
51 – 100	21 (33 ± 5,9)	4 (44 ± 16,5)

In the group of OC patients without recurrence, the indicator mt p53 exceeds zero (41 patients) more often than equals zero (no expression) (22 patients). Differences in the incidence of these values are statistically

significant ($\chi^2 = 11.5$; $p < 0.05$). In the group of OC patients with relapsing, such differences were not detected. There is no significant difference between groups in the frequency of indicator occurrence.

Table 4 Distribution of OC patients with the III-IV stages in terms of Ki67 expression depending on the presence of recurrence

Ki67 expression, %	Result of the disease	
	without recurrence (n = 63)	with recurrence (n = 9)
0	19 (30 ± 5,8)	4 (44 ± 16,5)
4 – 40	27 (43 ± 6,2)	3 (33 ± 15,7)
41 – 100	17 (27 ± 5,6)	2 (23 ± 14,0)

In the group of OC patients without recurrence, Ki67 exceeds zero (44 patients) more often than equals zero (19 patients). Differences in the frequency of oc-

currence of the indicated values are statistically significant ($\chi^2 = 33,6$; $p < 0,05$). In the group of OC patients with recurrence, no significant differences were detected.

Table 5 Distribution of OC patients with the III-IV stages in terms of Bcl-2 expression depending on the presence of recurrence

Bcl-2 expression	Result of the disease	
	without recurrence (n = 63)	with recurrence (n = 9)
Negative	33 (52 ± 6,3)	4 (44 ± 16,5)
Positive	30 (48 ± 6,3)	5 (56 ± 16,5)

Groups of patients do not differ. The frequency of occurrence of a positive and negative indicator is similar in these groups.

Table 6 Distribution of OC patients with the III-IV stages in terms of VEGF expression depending on the presence of recurrence

VEGF expression	Result of the disease	
	without recurrence (n = 60)	with recurrence (n = 9)
Negative	31 (52 ± 6,4)	5 (56 ± 16,5)
Positive	29 (48 ± 6,4)	4 (44 ± 16,5)

No statistically significant differences were found.

Distribution of OC patients with the III-IV stages depending on the level of MBM expression and type of recurrence is shown in Fig. 3-4.

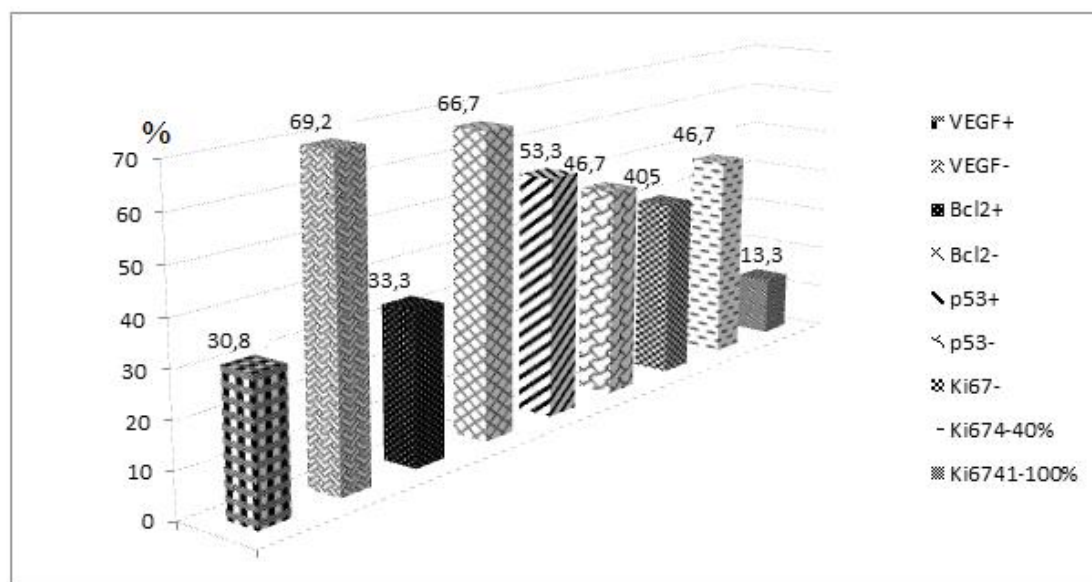


Figure 3 – Distribution of OC patients with generalization of the process depending on the level of MBM expression

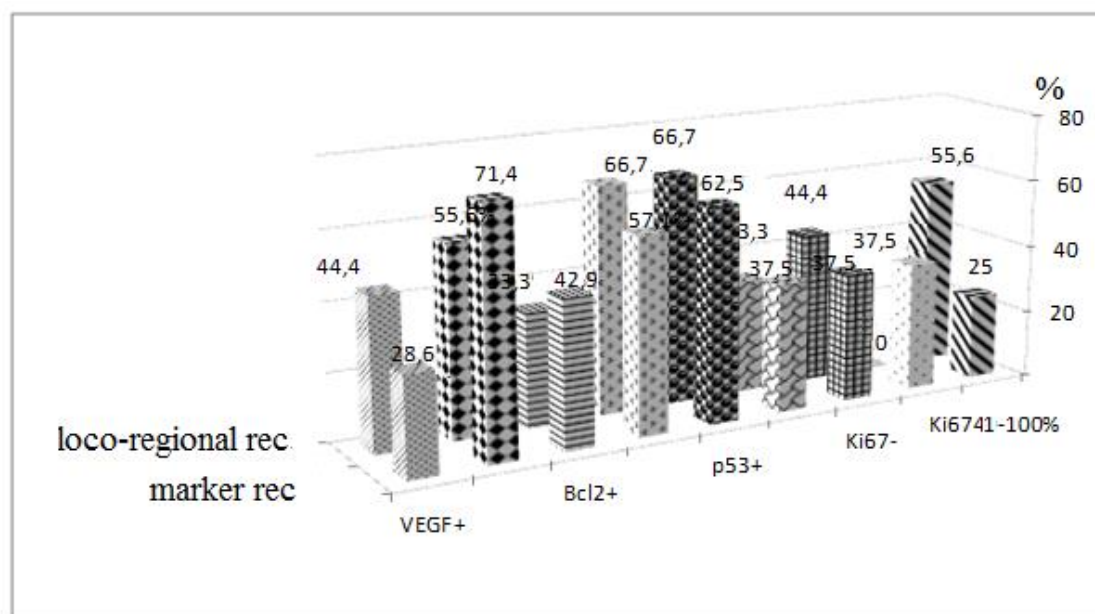


Figure 4 – Distribution of OC patients with loco-regional and marker recurrences depending on the level of MBM expression

As shown in Figs. 3 and 4, in patients with generalization of the process, marker and loco-regional recurrence of the III-IV stages in most cases, expression of the growth factor of vascular endothelium was absent (in 69.2%, 55.6% and 71.4% of cases respectively). In all types of recurrences, the absence of expression of Bcl-2 was observed in 66.7%, 66.7% and 57.1% of cases, respectively. In generalizing the process, mt p53 was absent in 46.7% of patients, and in other recurrences in 33.3% and 37.5% of cases, respectively. Moderate Ki67 expression was observed in 46.7% of patients with generalization, and 37.5% with marker recurrence. In the local recurrence, in contrast to the generalization of the process and marker recurrence, in the majority of cases, high expression (40-100%) of Ki67 was observed in 55.6% of patients. With the generalization of the process and biochemical recurrences, high expression (40-100%) of Ki67 was observed only in 13.3% and 25% of cases, respectively.

Conclusions:

1. The high level of mt p53 in OC patients with the III-IV stages after NPCT suggests the presence of chemo-resistant tumor cells, which is why it is not recommended to use drugs of the second line of chemotherapy for NPCT as it reduces the effectiveness of APCT with second line drugs and survival of the sick.
2. In most patients with recurrence, there is no expression of the apoptosis marker Bcl-2 and VEGF. Indicators of proliferative activity (Ki67) and mt p53 depended on the type of treatment.
3. Absence of VEGF and Bcl-2 expression can serve as a predictor of the risk of disease recurrence in OC patients with the III-IV stages.
4. Absence of VEGF, Bcl-2 and mt p53 expression at a moderate level (4-40%) of Ki67 is a negative factor and indicates the risk of generalization of the process in OC patients with the III-IV stages.
5. High expression of the proliferative activity indicator (Ki67) together with the lack of VEGF and Bcl-

2 expression may indicate a high risk of development of loco-regional recurrence of OC.

6. Absence of VEGF, Bcl-2 and mt p53 expression together with poor positive mt p53 expression and in combination with poor Ki67 expression may indicate a risk of marker recurrence.

References

1. Mikhanovskii A. A. Analysis of the effectiveness of combined treatment with neoadjuvant chemotherapy in patients with ovarian cancer / A. A. Mikhanovskii, E. N. Sudina // International med. journal – 2014. – Vol. 20, № 2. – P. 80-87.
2. Cancerstatistics, 2008 / A. Jemal, R. Siegel, E. Wardetaletal. // CA CancerJ. Clin. – 2008. – Vol. 58. – P. 71–96.
3. Biomolecular markers as prognosis factors of ovarian cancer in the III-IV stages / A. A. Mikhanovskii, Yu. V. Kharchenko, I. N. Krugova, S. V. Daniluk, N. N. Shchit, N. V. Fedorenko, M. A. Teplov // International med. journal – 2016. – Vol. 22, № 3 (87). – P. 55-58.
4. Kartashov S. M. Epidemiology and diagnosis of ovarian cancer: methodical recommendations / S. M. Kartashov, O. O. Akulina, T. V. Skritzka – K., 2008. – 25 p.
5. Vysotskii M. M. New trends in epidemiology and risk factors for sporadic ovarian cancer / M. M. Vysotskii, M. A. Digaeva, I. B. Manukhin // Endoscopic Surgery. – 2010. – № 6. – P. 56-59.
6. Kopnin B. P. Tumor suppressor mutational genes / B. P. Kopnin; ed. D. G. Zaridze // Carcinogenesis. – M.: Scientific World, 2000. – P. 75-91.
7. Spontaneous eapoptosis in ovarian carcinomas a positive association with p53 gene mutation is dependent on growth traction associated with cytoreduction and response to chemotherapy in ovarian cancer / G. Ferrandina, A. Fagotti, M. Salernoetal. // Br. J. Cancer. – 1999. – Vol. 81. – P. 733–740.
8. Clinical implications of expression of vascular

endothelial growth factor in metastatic lesions cancers / J. Fujimoto, H. Sakaguchi, I. Aoki et al. // Br. J. Cancer. – 2001. – Vol. 85, № 3. – P. 313-316.

9. Prognostic value of molecular-biological markers in tumors of patients with ovarian cancer in the

III-IV stages / A. A. Mikhanovskii, I. I. Yakovtsova, Yu. V. Kharchenko, O. V. Slobodyanyuk, N. N. Shchit, N. V. Fedorenko // International med. journal – 2017. – Vol. 23, № 3 (91). – P. 54-58.

M. I. Chaikovska,

*postgraduate student of the Department of Internal Medicine #3,
I. Horbachevsky Ternopil State Medical University*

L.P. Martynyuk,

*MD, professor, head of the Department of Internal Medicine #3,
I. Horbachevsky Ternopil State Medical University*

Мар'яна Ігорівна Чайковська,

Аспірант кафедри внутрішньої медицини №3

Тернопільського Державного Медичного Університету ім. І. Я. Горбачевського

Лілія Петрівна Мартинюк,

Д. мед. наук, професор, завідувач кафедри внутрішньої медицини №3

Тернопільського Державного Медичного Університету ім. І. Я. Горбачевського

FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 AND INFLAMMATION IN CHRONIC KIDNEY DISEASE ФАКТОР РОСТУ ФІБРОБЛАСТІВ 23 ТА ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ХВОРОБІ НИРОК

Summary. In order to study the state of systemic inflammation in CKD, we determined the level of IL-1 β , IL-6 and IL-8 in 106 patients, 47 women (44%) and 59 men (56%), aged (49.6 ± 13.9) years with CKD I-V stages. Also we studied the link between FGF-23 and the inflammatory markers in CKD. Concentration of IL-1 β , IL-6 and IL-8 was determined using a set of reagents for enzyme-linked immunosorbent assay «Vector BEST». The C-terminal fragment of FGF-23 was determined using a set of reagents for enzyme-linked immunosorbent assay "Biomedica" (Austria) on the STAT FAX 303 Plus machine. The increase in the concentration of inflammatory factors along with progression of chronic renal failure was revealed. The existence of a strong link between the level of IL-6 and the C-terminal fragment of FGF-23 in CKD was established. Finding out the issue of the primary stimulation factor of FGF-23 production in CKD requires further research.

Key words: *inflammation, CKD, IL-1 β , IL-6, IL-8, FGF-23.*

Анотація. З метою вивчення стану системного запалення при ХХН нами було визначено рівень ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 у 106 осіб, 47 жінок (44%) та 59 чоловіків (56%), віком ($49,6 \pm 13,9$) років із ХХН I-V стадій, а також досліджено зв'язок між ФРФ-23 та маркерами запалення при ХХН. Концентрацію ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 визначали за допомогою набору реактивів для імуноферментного аналізу «Вектор Бест». С-кінцевий фрагмент ФРФ-23 визначався за допомогою набору реактивів для імуноферментного аналізу «Biomedica» (Австрія) на апараті STAT FAX 303 Plus. Виявлено зростання концентрації факторів запалення в міру прогресування хронічної ниркової недостатності. Встановлено наявність сильного зв'язку між рівнем ІЛ-6 та С-кінцевим фрагментом ФРФ-23 при ХХН. З'ясування питання первинного фактора стимуляції продукції ФРФ-23 при ХХН потребує подальших досліджень.

Ключові слова: *запалення, ХХН, ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ФРФ-23.*

Постановка проблеми. Запалення було визнане невід'ємною частиною хронічної хвороби нирок (ХХН) наприкінці 1990-х років, коли було виявлено його зв'язок із серцево-судинними захворюваннями, білково-енергетичною недостатністю та смертністю [1, 2]. З того часу зацікавленість запаленням при ХХН стрімко зросла, і на сьогодні запалення визнається вже не новим, а швидше традиційним фактором ризику захворюваності та смертності при ХХН.

Як виявилось, різні біомаркери запалення мають різну прогностичну цінність при ХХН. Аналіз багатоцентрової міжнародної бази даних гемодіалізованих пацієнтів показав, що СРБ прогнозував смертність з точністю, близькою до альбуміну, підвищеного рівня феритину та рівня лейкоцитів [3]. Встановлено, що ІЛ-6 є кращим предиктором загальної та серцево-судинної смертності, ніж СРБ та інші цитокіни, такі як ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-18 [4, 5].

Триває дослідження ролі окремих цитокінів при ХХН та ТНН.

Фактор росту фібробластів 23 (ФРФ-23) є гормоном кісткового походження, що необхідний для підтримки нормального рівня фосфату та гомеостазу вітаміну Д3 [6]. Рівень ФРФ-23 при ХХН прогресивно зростає, а висока його концентрація міцно зв'язана з підвищеним ризиком прогресування ХХН, розвитку серцево-судинних ускладнень та смертністю [7].

Рівень ФРФ-23 регулюється не до кінця зрозумілою взаємодією місцевих кісткових факторів, що модулюють обмін та мінералізацію [8, 9, 10], та системних факторів, що контролюють мінеральний метаболізм. Високий рівень паратгормону, 1,25-дигідроксिवітаміну Д3, фосфату та кальцію стимулює вироблення ФРФ-23, але не може адекватно пояснити зростання концентрації ФРФ-23 на ранніх стадіях ХХН, оскільки підвищення концентрації ФРФ-

23 випереджує розвиток гіперпаратиреозу чи гіперфосфатемії, а концентрація вітаміну Д3 при захворюваннях нирок падає, як і рівень кальцію.

Аналіз досліджень і публікацій. Запалення при ХХН пов'язане і з мінерально-кістковими порушеннями (МКП). ФНП- α є одним з найпотужніших індукторів ключового тригера активації остеокластів та кісткової резорбції та пов'язаний з випадковими переломами у діалітичних пацієнтів [11].

Недавно було встановлено, що ФНП-подібний слабкий індуктор апоптозу (TWEAK) стимулює експресію запальних цитокінів локально в клітинах нирок та знижує експресію Клото в *in vitro* та *in vivo* [12]. Таким чином, запалення може сприяти розвитку резистентності до ФРФ-23 на ранніх стадіях ХХН та зростання концентрації останнього опосередковано.

Дослідження на тваринах та людині демонструють, що запалення стимулює транскрипцію ФРФ-23, що зрівноважується пропорційно підвищенням розщепленням щойно синтезованого ФРФ-23 у здорових остеоцитах. Це веде до того, що в крові можна знайти високий рівень фрагментів зруйнованого ФРФ-23, зокрема С-кінцевого фрагменту ФРФ-23, але не біологічно активного інтактного ФРФ-23.

Із прогресуванням ХХН зростає рівень загального ФРФ-23, і відношення С-кінцевого ФРФ-23 щодо інтактного ФРФ-23 падає, можливо внаслідок послабленого його розщеплення при ХХН. При відсутності ХХН саме хронічне запалення веде до зміни балансу утворення та розщеплення інтактного ФРФ-23 на користь першого, що супроводжується також падінням концентрації ПТГ та 1,25-дигідроксिवітаміну Д. В умовах ХХН запалення веде до підвищення концентрації інтактного біологічно активного ФРФ-23 [13].

Таким чином, показане посилення транскрипції ФРФ-23 в остеоцитах під впливом запалення. Проте питання з'ясування конкретного медіатора запалення, що володіє стимулюючим впливом на продукцію ФРФ-23, особливо на початкових етапах ХХН, залишається відкритим.

Мета дослідження. Вивчити стан системного запалення при ХХН шляхом оцінки рівня ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 та дослідити зв'язок між ФРФ-23 та маркерами запалення при ХХН.

Пацієнти та методи дослідження. Нами обстежено 106 осіб, 47 жінок (44%) та 59 чоловіків (56%), віком ($49,6 \pm 13,9$) років із ХХН, які перебували на стаціонарному обстеженні та лікуванні в нефрологічному відділенні КЗ ТОР «Тернопільської університетської лікарні». Серед обстежених хворих було 9 пацієнтів із ШКФ ≥ 90 мл/(хв $\cdot$ 1,73 м²), що склали першу групу (ХХН I, n=9), 6 пацієнтів із ШКФ 60-89 мл/(хв $\cdot$ 1,73 м²), що склали другу групу (ХХН II, n=6), 23 пацієнти із ШКФ 30-59 мл/(хв $\cdot$ 1,73 м²), що склали третю групу (ХХН III, n=23), 29 пацієнтів із ШКФ 15-29 мл/(хв $\cdot$ 1,73 м²), що склали четверту групу (ХХН IV, n=29), та 39 хворих із ШКФ < 15 мл/(хв $\cdot$ 1,73 м²), що утворили п'яту групу (ХХН V, n=39). Визначення рівня с-кінцевого фрагменту ФРФ-23 проводили пацієнтам із ХХН I-V стадій та контрольній групі, що включала 9 здорових осіб віком ($41,9 \pm 13,6$) років.

ШКФ розраховували за формулою СКД ЕРІ (KDIGO 2012).

Лабораторні дослідження включали визначення сироваткового рівня ІЛ-1 β , ІЛ-6 та ІЛ-8 за допомогою набору реактивів для імуноферментного аналізу «Вектор Бест». С-кінцевий фрагмент ФРФ-23 визначався за допомогою набору реактивів для імуноферментного аналізу «Biomedica» на апараті STAT FAX 303 Plus. Статистична обробка отриманих даних виконувалася за допомогою програм Microsoft Excel 2010, Statistica 10.0. Дані представлені як середнє значення (М) та стандартна похибка ($\pm m$). Статистичну достовірність відмінностей між кількісними показниками оцінювали за показником Манна-Уїтні (U). Зв'язок між показниками визначали за коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена (R).

Результати та їх обговорення. При вивченні рівня ІЛ-6 (рис. 1) нами виявлено прогресивне зростання його концентрації, порівняно із ХХН I, паралельно з падінням ШКФ із досягненням максимального рівня на V стадії ХХН ($82,46 \pm 7,62$) пг/мл ($p < 0,001$). ХХН II характеризувалась деяким зниженням значення ІЛ-6 ($6,54 \pm 1,38$) пг/мл порівняно із ХХН I ($7,25 \pm 2,14$) пг/мл, яке, проте, не досягнуло статистичної достовірності.

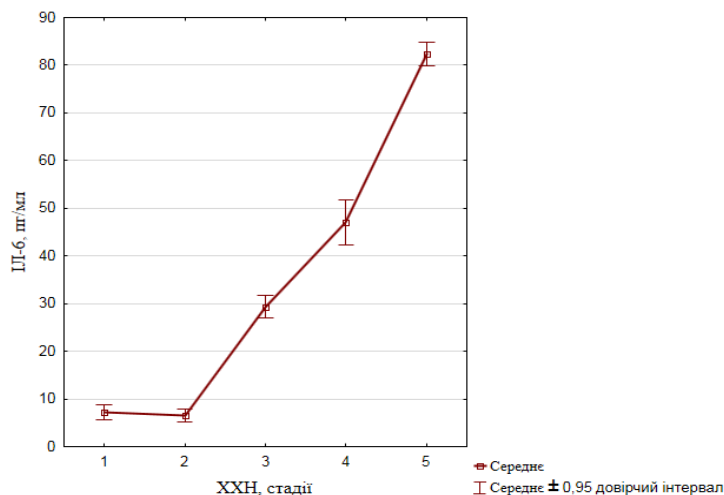


Рис. 1. Концентрація ІЛ-6 при ХХН.

При аналізі концентрації ІЛ-1 β (рис. 2) спостерігалось зростання рівня цього прозапального цитокіна від ХХН I ((12,64 $\pm$ 4,30) пг/мл) до ХХН IV

((32,06 $\pm$ 7,86) пг/мл) ($p < 0,001$). ХХН V характеризувався незначним, але достовірним зниженням показника ІЛ-1 β ((26,93 $\pm$ 5,59) пг/мл) порівняно із ХХН IV ($p < 0,05$).

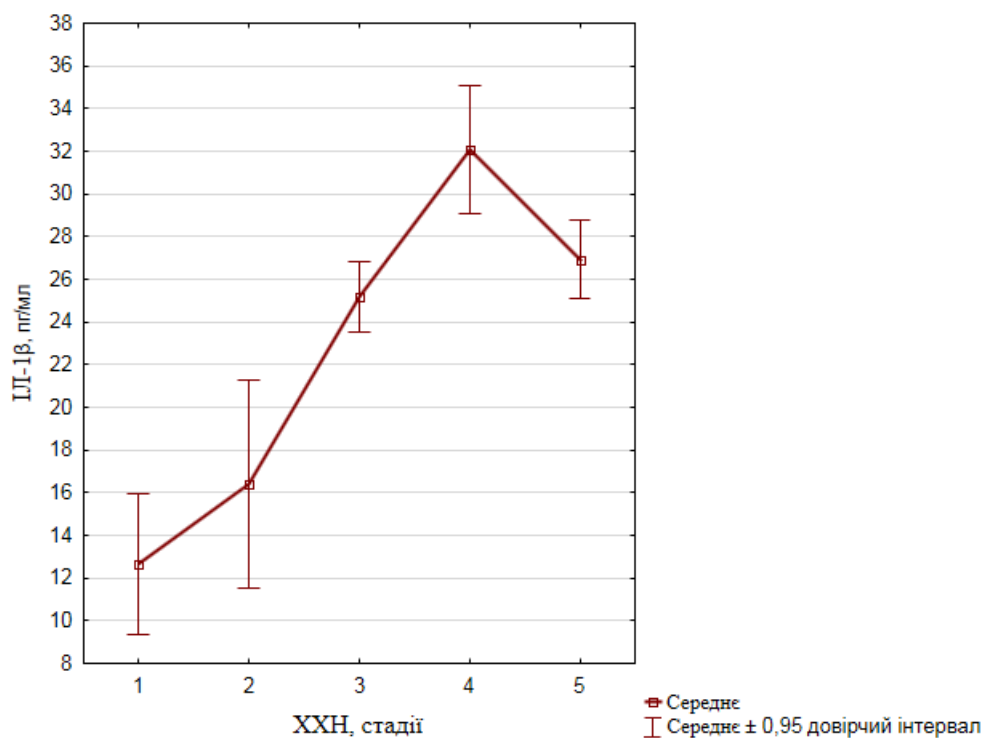


Рис. 2. Концентрація ІЛ-1 β при ХХН.

Вивчення показника ІЛ-8 (рис. 3) серед пацієнтів із ХХН показало прогресивне зростання концентрації прозапального ІЛ-8 починаючи від ХХН I ((9,39 $\pm$ 1,62) пг/мл) до ХХН IV ((33,00 $\pm$ 9,17) пг/мл)

($p < 0,001$). При ХХН V рівень ІЛ-8 достовірно зменшувався ($p < 0,001$) порівняно із ХХН IV, досягаючи рівня ((17,80 $\pm$ 7,30) пг/мл).

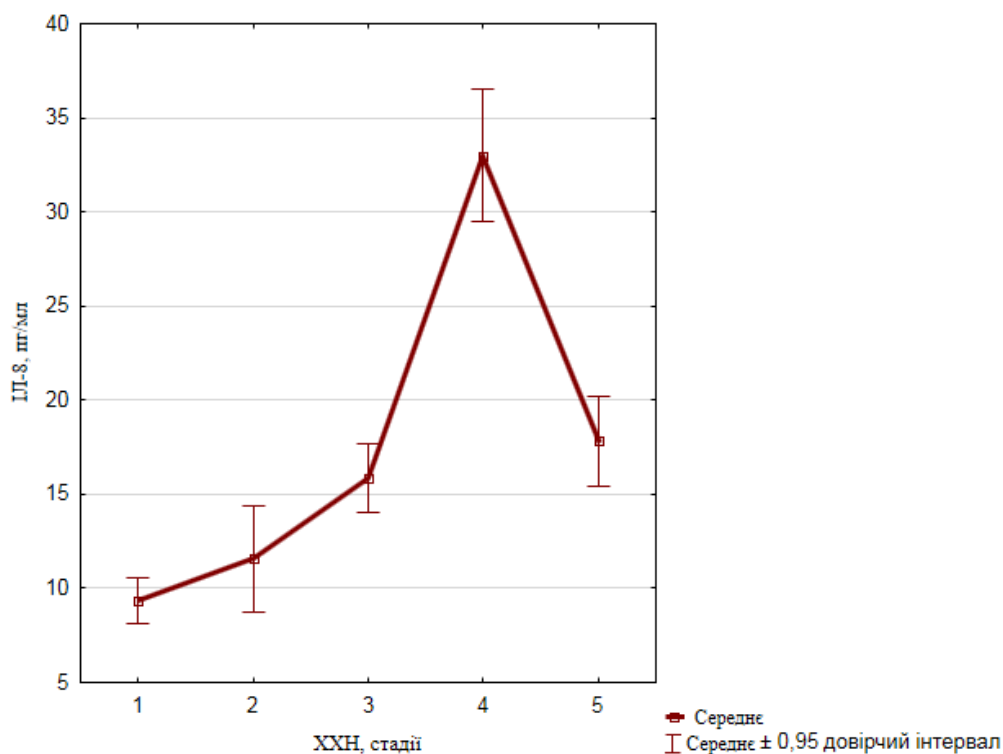


Рис. 3. Концентрація ІЛ-8 при ХХН.

При дослідженні зв'язків між ШКФ та факторами запалення виявлено слабку достовірну негативну кореляцію між ШКФ та ІЛ-8 ($R = -0,27$; $p < 0,05$) (рис. 4), яка досягала найбільшої сили при ШКФ > 15 мл/(хв·1,73м²) ($R = -0,84$; $p < 0,005$). Виявлено достовірний негативний середньої сили зв'язок між

ШКФ та ІЛ-1 β ($R = -0,39$; $p < 0,001$) (рис. 5), який був найяскравіший при ШКФ > 15 мл/(хв·1,73м²) ($R = -0,72$; $p < 0,005$). Також нами встановлено наявність сильного достовірного негативного зв'язку між ШКФ та ІЛ-6 при ХХН I-V стадій ($R = -0,89$; $p < 0,001$) (рис. 6).

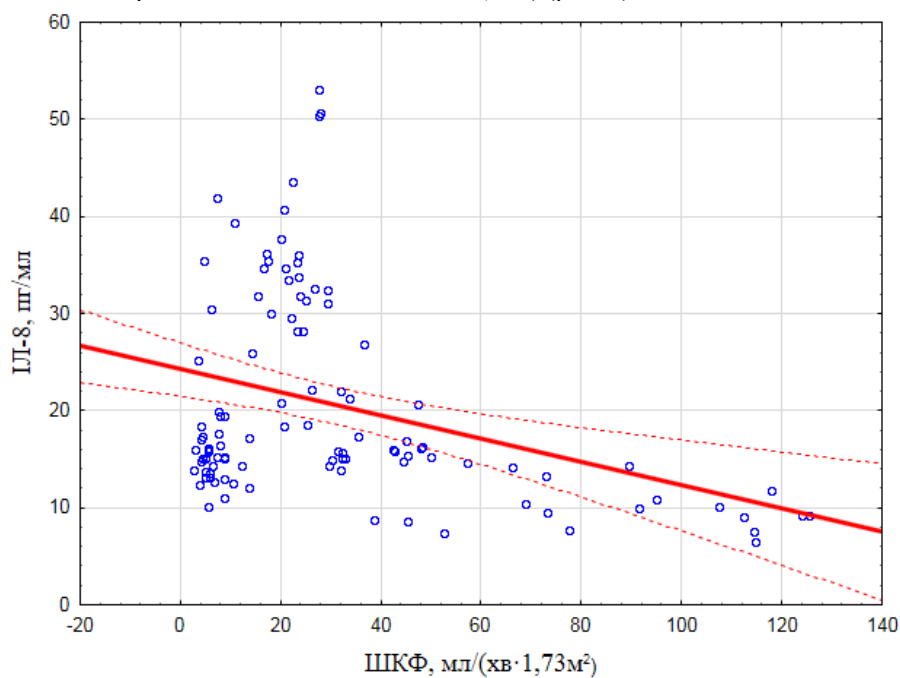


Рис. 4. Зв'язок між ІЛ-8 та ШКФ.

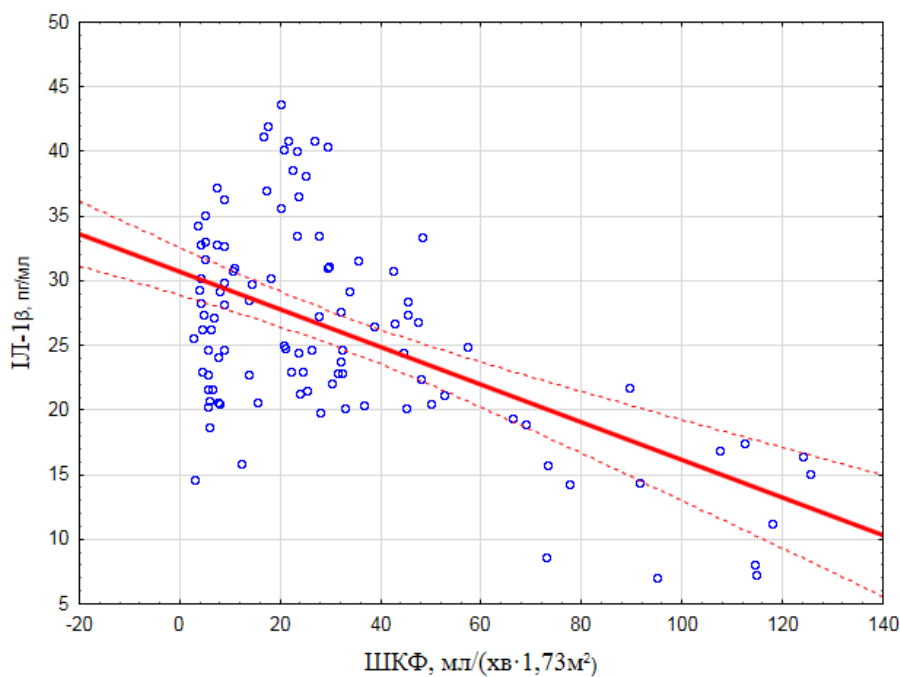


Рис. 5. Зв'язок між ІЛ-1 β та ШКФ.

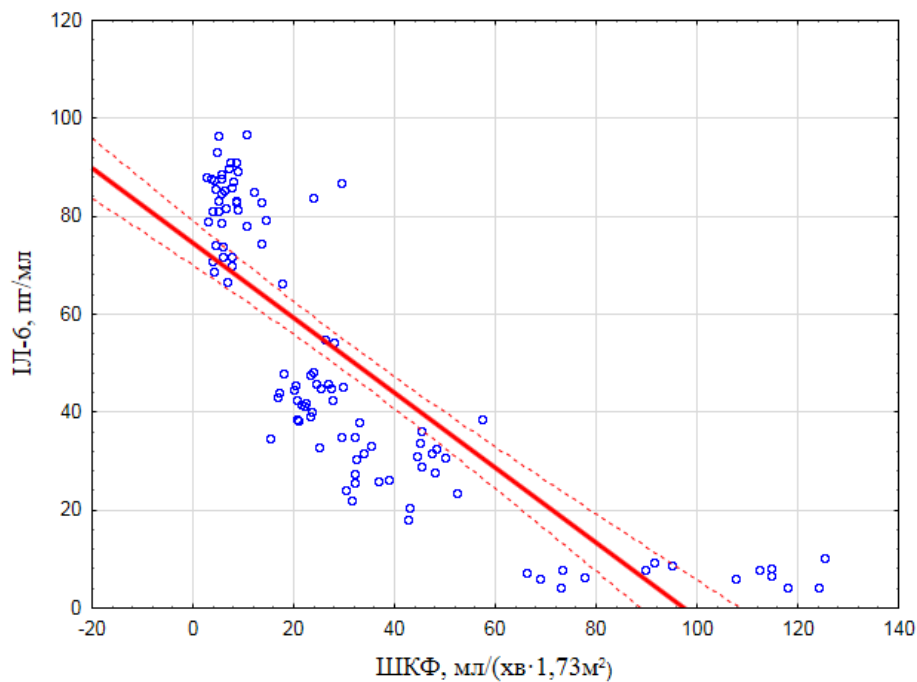


Рис. 6. Зв'язок між ІЛ-6 та ШКФ.

Серед досліджуваних нами прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 лише показники ІЛ-1 β перевищували референсні значення ((0-10) пг/мл) на І стадії ХХН, що свідчить про достатній рівень протизапальної ланки імунної відповіді, який, через складний каскад суперечливих реакцій, не допустив зростання ІЛ-6 та ІЛ-8. Проте, із зниженням ШКФ та виснаженням ресурсів протизапальних факторів організму, неухильно прогресує секреція факторів запалення, що супроводжується розвитком ускладнень ХНН.

Отримані результати свідчать про стан хронічного запалення при ХХН, яке посилюється паралельно з падінням функції нирок і стимулює подальше наростання ниркової недостатності. Показники хронічного запалення (ІЛ-1 β , ІЛ-8) досягають максимальних значень на переддіалізній стадії ХХН. При цьому замісна ниркова терапія не здатна повністю нівелювати дію запальних цитокінів, зниження їх концентрації не досягає рівня показників ХХН ІІІ.

Натомість рівень ІЛ-6, як представника завершальної фази запальної відповіді, досягає максимальних значень при термінальній нирковій недостатності, інгібуючи секрецію ІЛ-1 на останній стадії ХХН, що супроводжується, як наслідком, також зниженням продукції ІЛ-8.

При вивченні рівня сироваткової концентрації с-кінцевого фрагмента ФРФ-23 у пацієнтів із ХХН виявлено прогресивне зростання його рівня паралельно з розвитком ниркової недостатності. При чому, статистично значуще ($p < 0,05$) підвищення концентрації ФРФ-23 спостерігалось вже на другій стадії ХХН ($1,29 \pm 0,08$ пмоль/л) порівняно із ХХН І ($0,76 \pm 0,07$ пмоль/л). При зниженні ШКФ рівень ФРФ-23 продовжував зростати, досягаючи рівня ($1,71 \pm 0,22$ пмоль/л), ($1,90 \pm 0,30$ пмоль/л), ($17,51 \pm 7,08$ пмоль/л) на ІІ, ІV та V стадіях ХХН відповідно, що суттєво відрізнялося від даного показника при ХХН І ($p < 0,001$).

При обстеженні контрольної групи пацієнтів виявлено суттєву відмінність ($p < 0,05$) між рівнем ФРФ-23 у здорових осіб ($0,44 \pm 0,05$ пмоль/л) та у пацієнтів із ХХН як із зниженою ШКФ, так і з збереженою функцією нирок.

При дослідженні кореляції між ФРФ-23 та факторами запалення, такими як ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, виявлено достовірний зв'язок між ФРФ-23 та ІЛ-6 при ХХН І-V стадій ($R = 0,84$; $p < 0,001$) (рис. 7). Достовірний зв'язок між ФРФ-23 та ІЛ-1 β (рис. 8) при ХХН І-V стадій ($R = 0,28$; $p < 0,005$) посилювався при ШКФ > 15 мл/(хв·1,73м²) ($R = 0,45$; $p < 0,001$). Зв'язок між ФРФ-23 та ІЛ-8 спостерігався лише при ШКФ > 15 мл/(хв·1,73м²) ($R = 0,57$; $p < 0,001$).

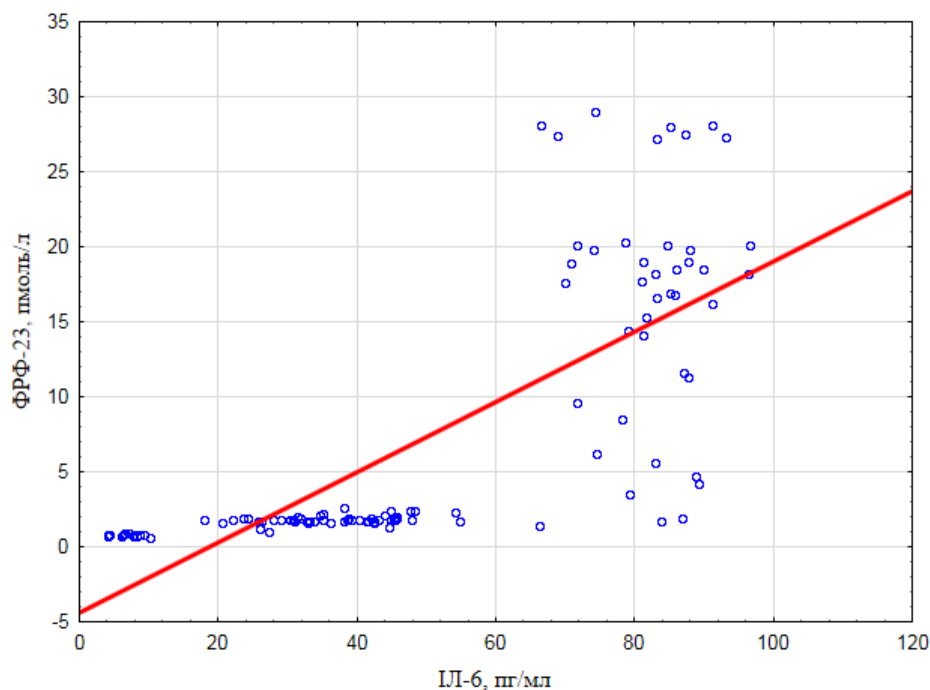


Рис. 7. Зв'язок між ФРФ-23 та ІЛ-6 при ХХН.

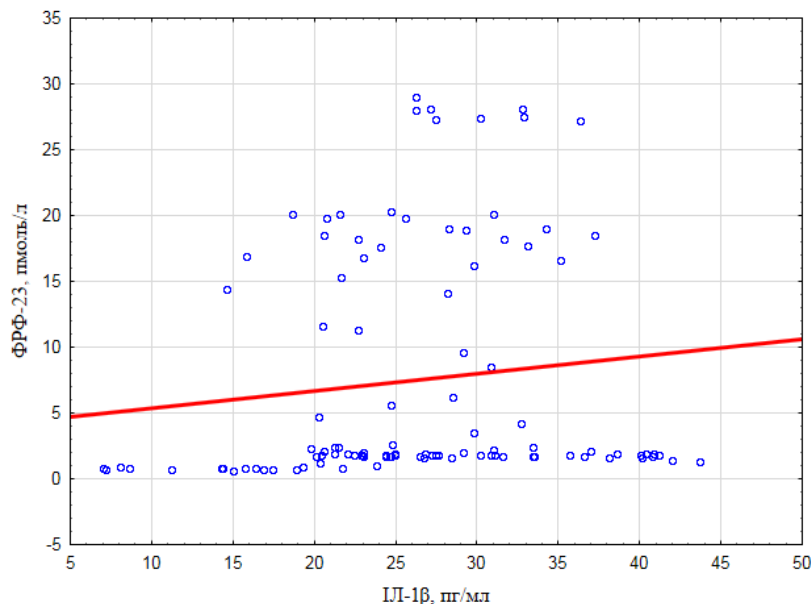


Рис. 8. Зв'язок між ФРФ-23 та ІЛ-1β при ХХН.

Отже, ФРФ-23 пов'язаний із факторами запалення, при чому найміцніший зв'язок спостерігається із ІЛ-6, що може свідчити про стимуляцію

продукції цього цитотоксичного фосфатоніну саме під дією ІЛ-6. З'ясування цього питання вимагає подальших досліджень.

Таблиця 1 Лабораторна характеристика обстежених пацієнтів

Показник		Група пацієнтів				
		ХХН І, n=9	ХХН ІІ, n=6	ХХН ІІІ, n=23	ХХН ІV, n=29	ХХН V, n=39
ІЛ-1β, пг/мл	M±m	12,64±4,30	16,43±4,65	24,36±3,64**	32,06±7,86**	26,93±5,59**
ІЛ-6, пг/мл	M±m	7,25±2,14	6,54±1,38	29,31±5,49**	46,27±10,58**	82,46±7,62**
ІЛ-8, пг/мл	M±m	9,39±1,62	11,56±2,72	15,84±4,24**	33,00±9,17**	17,80±7,30**
ФРФ-23, пмоль/л	M±m	0,76±0,07	1,29±0,08*	1,71±0,22**	1,90±0,30**	17,51±7,08**

Примітка: * - $p < 0,05$, порівняно з групою хворих із ШКФ ≥ 90 мл/(хв $\cdot$ 1,73м²); ** - $p < 0,001$, порівняно з групою хворих із ШКФ ≥ 90 мл/(хв $\cdot$ 1,73м²)

Висновки.

1. У хворих із ХХН має місце хронічне запалення, яке зростає в міру прогресування ХНН та деякою мірою корегується замісною нирковою терапією.
2. Показники прозапальних ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, наростаючи паралельно зі зниженням ШКФ, свідчать про важкість запальної відповіді, а тому можуть бути використані для поглибленої діагностики як предиктори несприятливих наслідків при ХХН.
3. У хворих із ХХН має місце підвищення концентрації С-кінцевого фрагменту ФРФ-23. ІЛ-6 володіє достовірним сильним зв'язком із рівнем С-кінцевого фрагменту ФРФ-23 при ХХН.

Список літератури:

1. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999;55:1899–1911.
2. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C: Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999;55:648–658.
3. Bazeley J, Bieber B, Li Y, Morgenstern H et al. C-reactive protein and prediction of 1-year mortality in prevalent hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:2452–2461.
4. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O et al. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006;47:139–148.
5. Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:S83–S88.
6. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev*. 2012;92:131–155.
7. Gutierrez, O.M., Mannstadt, M., Isakova, T. et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*. 2008; 359: 584–592
8. Martin A, David V, Li H, et al. Overexpression of the DMP1 C-terminal fragment stimulates FGF23 and exacerbates the hypophosphatemic rickets phenotype in Hyp mice. *Mol Endocrinol*. 2012;26:1883–1895.
9. Martin A, Liu S, David V, et al. Bone proteins PHEX and DMP1 regulate fibroblastic growth factor Fgf23 expression in osteocytes through a common pathway involving FGF receptor (FGFR) signaling. *FASEB J*. 2011;25:2551–2562.
10. Feng JQ, Ward LM, Liu S, et al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat Genet*. 2006;38:1310–1315.
11. Panuccio V, Enia G, Tripepi R et al. Pro-inflammatory cytokines and bone fractures in CKD patients. An exploratory single centre study. *BMC Nephrol* 2012;13:134
12. Sanz AB, Izquierdo MC, Sanchez-Nino MD et al. TWEAK and the progression of renal disease: clinical translation. *Nephrol Dial Transplant* 2014;29(suppl 1):i54–i62.
13. Valentin David, Aline Martin, Tamara Isakova et al. Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. *Kidney International* (2016) 89, 135–146.

Шертаев Мухаметамин Маметжанович,

Ташкентский Медицинский Педиатрический Институт,

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской биологии

Арифджанова Жонона Фаррух кизи,

Ташкентский Педиатрический Медицинский институт,

Студентка 5 курса

Собирова Феруза Озод кизи,

Ташкентский Педиатрический Медицинский институт,

Студентка 5 курса

АСПЕКТЫ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ИНСУЛЬТА ASPECTS OF CEREBRAL STROKE

Abstract: Stroke occupies a special place in medicine and therefore our work reflects aspects of this pathology on the basis of literary analysis.

Key words: stroke, complications, death.

Аннотация: Инсульт занимает особое место в медицине и поэтому в нашей работе отражены аспекты этой патологии на основе литературного анализа.

Ключевые слова: инсульт, осложнения, смерть.

В течение последних десятилетий проблема острого церебрального инсульта приобретает все большую значимость в связи с высоким уровнем

летальности, значительной инвалидизацией и социальной дезадаптацией перенесших его пациентов.

В мире инсульт ежегодно переносит многочисленное количество людей и летальность которая достигает 35–45%. По данным литературы по предотвращению повторного инсульта у больных, перенесших ишемическое нарушение мозгового кровообращения или транзиторную ишемическую атаку (ТИА), повторный ишемический инсульт составляет до 90 % от всего количества острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) и является основной причиной смертности и длительной инвалидизации в развитых странах.

Анализируя данные литературных источников можно сказать, что частота ишемических инсультов в России составляет 300-500 на 100 000 населения. Среди больных старше 25 лет заболеваемость и смертность увеличиваются примерно в 2-3 раза с каждым последующим десятилетием. При распределении по возрастному критерию цереброваскулярные заболевания, связанные с расстройством мозгового кровообращения, неизменно занимают ведущее место среди причин смертности у лиц пожилого (60-74 лет) и старческого (75-90 лет) возраста. Очевидно, что в настоящее время ишемический инсульт становится одной из важнейших неврологических проблем.

Диагностика и лечение острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) является важнейшей медико-социальной проблемой. По данным VII Всемирного конгресса неврологов, ежегодно в мире регистрируется более 50 млн человек, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения.

В России наблюдается неуклонный рост цереброваскулярных заболеваний (ЦВЗ).

По данным статистики в России ежегодно мозговой инсульт (МИ) поражает до 500 тысяч человек, более половины из которых умирают, а из оставшихся в живых лишь 18-20% возвращаются к ограниченному труду. По своей масштабности проблема НМК сопоставима с проблемой инфаркта миокарда. Зарубежными авторами отмечено, что в большинстве стран инсульт занимает второе, третье место в структуре общей смертности населения, уступая лишь показателю смертности от заболеваний сердца и опухолей всех локализаций, а в некоторых странах он занимает вторую и даже первую позицию. Специалистами отмечено, что ранняя (30 дневная) летальность после инсульта составляет 35%, в течение года умирают около 50% больных. В среднем по популяции летальность в остром периоде инсульта составляет 41,9%: при ГИ - 79,5%, при ИИ - 28,7%.

Анализ литературных источников показал, что интерес к выяснению причины инсульта у больных молодого возраста, связан с тем, что этиология инсульта у значительной части больных молодого возраста отличается от этиологии инсульта у больных старших возрастных групп, и часто остается невыясненной, что имеет значение для проведения квалифицированной профилактики повторных инсультов. Недостаточно разработан алгоритм обследования больных с инсультом молодого возраста.

Велико медико-социальное значение изучения инсульта у лиц, находящихся в самом расцвете сил, в репродуктивном возрасте, часто на высоте творческого и профессионального взлета.

Частота инсульта в молодом возрасте, колеблется по данным разных исследователей, от 2,5 до 10% всех инсультов в популяции. Определенное место среди ишемических инсультов (ИИ), у больных молодого возраста занимают наследственные сосудистые заболевания. Летальность в острой стадии ИИ в молодом возрасте колеблется от 1,5 до 7% , при геморрагическом инсульте (ГИ) от 17 до 26% . Среди больных молодого возраста с ИИ возвращаются к труду свыше 40% и это связано с более лучшим восстановлением двигательных и речевых функций, по сравнению с более пожилыми возрастными группами.

Авторами подтверждено, что за последние годы отмечена высокая частота сочетания ОНМК и клинически выраженных депрессий. Депрессия после инсульта, как правило, отличается стойкостью, она регистрируется через год у 30-60% пациентов. Многие авторы отмечают значительный рост инвалидизации и летальности среди больных с выраженной депрессией после инсульта. Кроме того, депрессия определяется не только как наиболее частое, но и как недоисследованное и потому нелеченное осложнение инсульта.

Известно, что более 50% пациентов, перенесших инсульт, страдают тревожно-депрессивными расстройствами, но только треть больных получает антидепрессантную терапию.

По данным исследователей у 20-60% больных спустя 2-6 месяцев после инсульта развиваются разнообразные непереносимые депрессивные состояния, которые могут нарастать и длиться 8—9 месяцев. У 2—3% пациентов постинсультная депрессия является маскированной. Показано также, что депрессия оказывает негативное влияние на продолжительность восстановительного периода и функциональную реабилитацию.

Таким образом можно отметить на основе литературных источников, что полиморфизм самого постинсультного состояния, характеризующийся очаговыми симптомами, астеническим симптома комплексом, различными вегетативными проявлениями с клиникой депрессивных расстройств представляет в неврологической практике значительную сложность.

Список литературы:

1. Акарачкова, Е.С. Афобазол — новые возможности терапии вегетативных проявлений тревоги у больных неврологической и общемедицинской практики / Е.С. Акарачкова // Фарматека. 2006, № 13. - С.25.27.
2. Берг, А. Постинсультная депрессия (динамическое наблюдение в течение 18 мес) / А. Берг, Г. Паломачи, М. Лехтихалмез // Stroke. 2004. - Вып. 1.- С. 32-38.
3. Богданов, Э.И. Индекс Бартеля в оценке восстановления больных, перенесших мозговой ин-

сульт в остром периоде заболевания / Э.И. Богданов, Ф.В. Тахавиева // Неврол. вестн., 2002. Т. 34, вып. 3/4. - С. 59-60.

4. Суслина, З.А. Особенности антигипертензивной терапии при цереброваскулярных заболеваниях / З.А. Суслина, Л.А. Гераскина, А.В. Фоныкин // Клинич. фармакология и терапия. — 2002. — № 5. — С. 83-87.

5. Bogosslavsky, J. Imaging in stroke / J. Bogosslavsky, G. Freitas, W-D. Heiss. New York: Rembrica Publishing Limited., 2003. - 216 p.

6. Bondy, B. Combined action of the ACE D- and G-protein 63 T-allele in major depression: a possible link to cardiovascular disease? / B. Bondy, T.C. Baghai, P. Zill, et al.. // Mol. Psychiatry. 2002. - Vol. 7. - P. 1120-1126.

Shurpyak S. A.

PhD, doctoral student, associate professor at Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Faculty of Postgraduate Education Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Шурп'як С.О.

кандидат медичних наук, докторант, доцент кафедри акушерства, гінекології та перинатології ФПДО Львівський національний медичний університет імені Д. Галицького

REPRODUCTIVE HEALTH REHABILITATION OF WOMEN WITH COMBINED BENIGN PROLIFERATIVE DISEASES OF REPRODUCTIVE SYSTEM AND COMORBID CONDITIONS - RISK STRATIFICATION AND DIFFERENTIATION OF APPROACHES

РЕАБІЛІТАЦІЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВ'Я ЖІНОК З ПОЄДНАНИМИ ДОБРОЯКІСНИМИ ПРОЛІФЕРАТИВНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ І КОМОРБІДНИМИ СТАНАМИ – СТРАТИФІКАЦІЯ РИЗИКІВ І ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ ПІДХОДІВ

Анотація: Доброякісні поєднані проліферативні захворювання (ДППЗ) жіночої репродуктивної системи займають провідне місце в структурі загальної гінекологічної захворюваності, причому поєднана патологія становить від 30 до 90,1%. Залежно від розладів, що поєднуються при ДППЗ (міома матки, гіперплазія ендометрія, аденоміоз, ендометріоз, фіброзно-кістозна хвороба грудних залоз) дана патологія характеризується більш важкими клінічними проявами, що зумовлює труднощі діагностики та вибору оптимальної лікувальної тактики.

Мета роботи – розробити диференційовані підходи до реабілітації репродуктивного здоров'я жінок з поєднаними доброякісними проліферативними захворюваннями репродуктивної системи і коморбідними станами.

Дослідження виконувалась у два етапи. На I-му етапі обстеження передбачало верифікацію ДППЗ. Критеріями включення у дослідження II етапу були доброякісні поєднані проліферативні захворювання органів репродуктивної системи наявність або відсутність субклінічного гіпотиреозу і нестачі або дефіциту вітаміну D.

Всього у досліджувану когорту увійшли 168 пацієток з доброякісними поєднаними проліферативними захворюваннями органів репродуктивної системи, з них 113 – з субклінічним гіпотиреозом та нестачею або дефіцитом вітаміну D.

Рандомізація пацієток на клінічні групи проводилась згідно репродуктивних планів. Контрольну групу склали 50 жінок без гінекологічної патології в анамнезі і на момент обстеження.

Пацієнтам проводився лікувально-реабілітаційний комплекс, розрахований на 6 місяців. Аналіз ефективності 6-ти місячного лікувально-реабілітаційного курсу терапії показав позитивну клінічну динаміку у 92,0% пацієток основних груп.

Отримані нами попередні позитивні результати свідчать про перспективність зазначених підходів та визначають доцільність та актуальність продовження пошуку оптимальних методів лікування поєднаних дисгормональних захворювань репродуктивної системи.

Ключові слова: Доброякісні поєднані проліферативні захворювання жіночої репродуктивної системи, коморбідними станами, дефіцит вітаміну D, лікувально-реабілітаційний комплекс, субклінічний гіпотиреоз.

Summary: Benign combined proliferative diseases (BCPD) of the female reproductive system occupy a leading place in the structure of general gynecological diseases, with ranging of combined pathology from 30 to 90.1%. Depending on the disorder that is combined with BCPD (uterine fibroids, endometrial hyperplasia, adenomyosis, endometriosis, fibro-cystic breast disease), this pathology is characterized by more severe clinical manifestations, which causes difficulty in diagnosis and choice of optimal therapeutic tactics.

The purpose of the work is to develop differentiated approach to the rehabilitation of reproductive health of women with combined benign proliferative diseases of the reproductive system and comorbid states.

The study was carried out in two stages. At the 1st stage, the BCPD was verified. The inclusion criteria for the second phase of the study were benign combination proliferative diseases of the reproductive system, with presence or absence of subclinical hypothyroidism and lack or deficiency of vitamin D.

In total, the study cohort included 168 patients with benign, combined proliferative diseases of the reproductive system, of which 113 with subclinical hypothyroidism and deficiency or deficiency of vitamin D.

Randomization of patients in clinical groups was conducted according to reproductive plans. The control group consisted of 50 women without gynecological pathology in the history and at the time of the survey.

Patients were given a treatment and rehabilitation complex, designed for 6 months. An analysis of the effectiveness of the 6-month treatment and rehabilitation course of therapy showed positive clinical dynamics in 92.0% of patients in main groups.

The results obtained by us indicate promising of this approach and confirm the expediency and relevance of the continuation of the search for optimal methods of treatment of combined dysghormonal diseases of the reproductive system.

Key words: benign combined proliferative diseases of the female reproductive system, comorbid states, vitamin D deficiency, treatment and rehabilitation complex, subclinical hypothyroidism.

Постановка проблеми.

Доброякісні поєднані проліферативні захворювання (ДППЗ) жіночої репродуктивної системи займають провідне місце в структурі загальної гінекологічної захворюваності, причому поєднана патологія становить від 30 до 90,1% [1, 2, 5]. Актуальність проблеми пов'язана з високою поширеністю ДППЗ у популяції жінок, значним омолодженням контингенту хворих, несприятливими безпосередніми і віддаленими наслідками, частим розвитком на тлі супутніх коморбідних патологій, з яких, на даний час заслуговують на увагу патологія щитоподібної залози (в першу чергу гіпотиреоз) і дефіцит вітаміну D [8, 10, 11, 12].

Залежно від розладів, що поєднуються при ДППЗ (міома матки, гіперплазія ендометрія, аденоміоз, ендометріоз, фіброзно-кістозна хвороба грудних залоз) дана патологія характеризується більш важкими клінічними проявами, представляє труднощі проведення діагностики та вибору оптимальної лікувальної тактики, підвищує ризик малігнізації, значно погіршує якість життя, а також підвищує вартість лікування.

Ключовими проблемами ДППЗ, які вимагають ефективного вирішення, є маткові кровотечі, больовий синдром (дисменорея, диспареунія, хронічний тазовий біль), безпліддя і невиношування. Приблизно одна третина жінок звертається за медичною допомогою у зв'язку з різними типами маткових кровотеч, які займають друге місце серед причин госпіталізації жінок в гінекологічні стаціонари і служать показанням для більшої частини гістеректомії і ендоскопічних деструктивних хірургічних втручань, що проводяться у світі. Різні аспекти тазового болю при ДППЗ залишаються однією з найбільш актуальних і широко обговорюваних проблем [9]. Поєднана патологія, як правило, призводить до безпліддя і вимагає звернення до допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ).

Стратифікація ризиків при ДППЗ репродуктивних органів має базуватись на віковій градації пацієнток, анамнестичних особливостях, їх репродуктивних планах та особливостях клінічних проявів. Рання стратифікація ризиків, яка здійснюється на початку ведення пацієнток, має визначає прогноз, необхідний обсяг обстежень, черговість лікувальних інтервенцій, стратегію ведення впродовж

періоду досягнення точки ефективності – покращення якості життя або досягнення вагітності. Однак стратифікація ризиків при ДППЗ репродуктивних органів має здійснюватись і по досягненні очікуваної ефективності з метою визначення подальшого прогнозу та довгострокової стратегії лікування.

У основі ДППЗ лежить спільність етіології і ключових патогенетичних механізмів (гормональних, запальних, молекулярно-генетичних тощо). Загальні чинники ризиків поєднаної патології включають порушення функції репродуктивної системи (раннє менархе, пізня менопауза, синдром полікістозних яєчників, безпліддя і ін.), ендокринні і метаболічні розлади, негативний вплив окремих чинників зовнішнього середовища і способу життя. Ведення хворих з ДППЗ представляє значні труднощі, починаючи з проведення диференційної діагностики, а надзвичайно варіабельна клінічна картина утрудняє вибір терапії. Якщо підрахунок прямих і непрямих реальних витрат на лікування пацієнток з ендометріозом, міомою матки, ендометріоз-асоційованим болем представлений у літературі [5, 13], то такі дані щодо пацієнток з ДППЗ відсутні, до того ж об'єктивній оцінці важко піддаються економічні втрати внаслідок зниження якості життя, пов'язаної із здоров'ям, в розквіті репродуктивного періоду життя жінок.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

На даний час встановлено, що складні гормональні взаємовідносини, які виникають у жінок з дисфункцією ЩЗ, створюють передумови для виникнення не тільки монотопічних гіперпластичних процесів, але й одночасного ураження більшості гормонозалежних органів репродуктивної системи [12]. А огляд літератури свідчить, що вітамін D бере участь у регуляції проліферації і диференціювання клітин всіх органів і тканин, у тому числі клітин крові і іммунокомпетентних клітин. Антипроліферативна і стимулююча диференціювання клітин активність вітаміну D дозволяє припустити його роль в розвитку і пригніченні проліферативних процесів ряду органів, в тому числі репродуктивних (молочної залози, яєчників тощо) [3, 4, 13]. У деяких дослідженнях на основі епідеміологічного аналізу

встановлено зниження на 25 – 35% ризику злоякісних новоутворень різної локалізації при концентрації 25 (ОН) D більше 30 нг/мл [6, 7].

Невирішені раніше частини загальної проблеми.

Питання розробки алгоритмів лікування доброякісних поєднаних проліферативних захворювань (ДППЗ) репродуктивної системи на основі стратифікації ризиків, вікової градації пацієнток і репродуктивних планів на теперішній час вимагає подальшого вивчення, що особливо актуально з огляду на поширеність зазначених коморбідних станів в Україні (гіпотиреозу, дефіциту вітаміну D), які можуть впливати на перебіг патології репродуктивної системи, що і зумовило мету нашої роботи.

Мета роботи – розробити диференційовані підходи до реабілітації репродуктивного здоров'я жінок з поєднаними доброякісними проліферативними захворюваннями репродуктивної системи і коморбідними станами (субклінічний гіпотиреоз і дефіцит або нестача вітаміну D) на основі стратифікації ризиків згідно вікового аспекту і репродуктивних планів.

Викладення основного матеріалу.

Матеріали і методи

Робота виконувалась у два етапи. На I-му етапі обстеження передбачало верифікацію ДППЗ з використанням комплексу методів – гінекологічне обстеження, ультразвукове обстеження органів малого тазу і грудних залоз, соногістероскопію, за показаннями – гістеро – і лапароскопію, морфологічне дослідження біопатів ендометрію.

Клінічні методи включали анкетування за спеціально розробленою анкетною, консультації терапевта, ендокринолога і мамолога, вимірювання артеріального тиску, антропометричне обстеження (окружність талії, маса тіла, зріст, обчислення індексу маси тіла (ІМТ), загальні клінічні аналізи крові і сечі, біохімічні - визначення концентрації глюкози у крові глюкозооксидазним методом, ліпідограму, коагулограму. Вивчення соматичного статусу, об'єктивне загально-соматичне, клініко-лабораторне, гінекологічне обстеження проводили рутинними методами. У пацієнток з нереалізованими репродуктивними планами виключали трубно-перитонеальний чинник безпліддя та чоловічий фактор.

Рівні тропних гормонів гіпофізу (ФСГ, ЛГ, пролактину), стероїдних гормонів яєчників (естрадіолу і прогестерону), 25(ОН)D у сироватці крові визначали імунохемілюмінесцентним методом з використанням тест-систем Roche Diagnostics (Швейцарія) на аналізаторі Cobas 6000. Достатнім рівнем 25 (ОН) D у сироватці крові вважали концентрацію 30-60 нг/мл; недостатністю – концентрацію 25 (ОН) D 20-29 нг/мл; дефіцитом - рівень 25 (ОН) D менше 20 нг/мл [6].

Діагностика дисфункції ЩЗ включала визначення рівня ТТГ, антитіл до тиреоїдної пероксидази (АТ-ТПО), концентрацію в сироватці крові вільного тироксину. За істинний еутиреоїдний стан приймали низьконормальний рівень ТТГ в межах

0,4-2,0 мМо/л згідно рекомендацій світового товариства ендокринологів (2015). УЗД ЩЗ проводили лінійним датчиком 8 мГц з кольоровим доплерівським картуванням, УЗД органів малого тазу і молочної залози - на апараті Aloka SSD 1400 (фірма Aloka, Японія) з використанням конвексних датчиків з частотою 3,5 і 5 мГц.

Критеріями включення у дослідження II етапу були доброякісні поєднані проліферативні захворювання органів репродуктивної системи (гіперплазія ендометрію, аденоміоз, фіброзно-кістозна хвороба грудних залоз) наявність або відсутність субклінічного гіпотиреозу і нестачі або дефіциту вітаміну D. Всього у досліджувану когорту увійшли 168 пацієнток з доброякісними поєднаними проліферативними захворюваннями органів репродуктивної системи, з них 113 – з субклінічним гіпотиреозом та нестачею або дефіцитом вітаміну D.

За проведеною стратифікацією ризиків у дане дослідження не включалися пацієнтки з обтяженим онкологічним сімейним анамнезом, наявністю простої та комплексної атипової гіперплазії ендометрію, фіброаденомою грудних залоз.

Рандомізація пацієнток на клінічні групи проводилась згідно репродуктивних планів.

I основну групу (ІО) склали 58 жінок (середній вік $32,3 \pm 3,5$ років) з ДППЗ реалізованими репродуктивними планами, які не планували більше народжувати, субклінічним гіпотиреозом та нестачею або дефіцитом вітаміну D. У II основну групу (ІІО) увійшли 55 жінок (середній вік $34,6 \pm 2,3$ років) з ДППЗ, нереалізованими репродуктивними планами, субклінічним гіпотиреозом та нестачею або дефіцитом вітаміну D. I групу порівняння (ІП) склали 25 жінок (середній вік $34,8 \pm 3,6$ років) з ДППЗ, реалізованими репродуктивними планами, які не планували більше народжувати і відсутністю субклінічного гіпотиреозу та оптимальним рівнем вітаміну D. У II групу порівняння (ІІП) увійшли 30 жінок (середній вік $35,4 \pm 1,8$ років) з ДППЗ нереалізованими репродуктивними планами, відсутністю субклінічного гіпотиреозу та оптимальним рівнем вітаміну D. Контрольну групу склали 50 жінок без гінекологічної патології в анамнезі і на момент обстеження.

Лікувально-реабілітаційний комплекс, розрахований на 6 місяців, для пацієнток ІО і ІІО груп схема лікування, включала Аквадетрим 2000 / 3000 МО/добу (залежно від рівня 25 (ОН) D, леворитоксин 50 мкг/добу, препарат Епігалін Брест, активними компонентами якого є 3,3-дііндолілметан (200 мг), екстракт зеленого чаю (82 мг, що містить 45 мг епігаллокатехін-3-галлату) та екстракт прутняка звичайного (100 мг), який блокує гормон-залежну проліферацію шляхом нормалізації метаболізму естрогенів через зменшення продукції «агресивного» проканцерогенного 16 α -гідроксиестерону. Диференціація гестагенотерапії передбачала призначення на 14-26 дні МЦ мікронізованого вагінального прогестерону по 200 мг/добу при нереалізованих репродуктивних планах і дієногест 2 мг/добу у безперервному режимі.

Для пацієнток ІО і ІІО груп схема лікування, розрахована аналогічно на 6 місяців, передбачала тільки проведення гестагенотерапії препаратами і дозами, аналогічними основним групам (мікронізований вагінальний прогестерон по 200 мг/добу при нереалізованих репродуктивних планах на 14-26 дні МЦ і дієногест 2 мг/добу у безперервному режимі при реалізованих репродуктивних планах).

Критеріями ефективності терапії були динаміка редукції клінічної симптоматики, нормалізація гормонального гомеостазу, стану ендометрія і молочних залоз, для пацієнток з нереалізованими репродуктивними планами – настання вагітності впродовж 6 місяців після завершення лікування..

Статистичний аналіз фактичного матеріалу проведений із застосуванням статистичних програм Microsoft Excel 5.0 і Statistica 6.0. Критичний рівень значимості (p) при перевірці гіпотез дорівнював 0,05 з урахуванням множинних порівнянь.

Результати дослідження та їх обговорення

Отримані на І етапі дослідження дані засвідчили, що еутиреоїдний стан згідно застосованих критерії мав місце у 42,3% жінок з доброякісними поєднаними проліферативними захворюваннями, тоді як у контрольній групі - у 80,0% жінок (p < 0,001). Субклінічний гіпотиреоз був діагностований у 49,8% жінок з ДППЗ, у той час як у контрольній групі субклінічний гіпотиреоз діагностовано у 8,0% пацієнток (p<0,001). У всіх жінок з субклінічним гіпотиреозом рівні тиреоїдних гормонів були в межах фізіологічної норми (вільний Т4 $19,8 \pm 4,1$ пмоль / л). Маніфестний гіпотиреоз (ТТГ>10 мМО/л діагностовано у 7,9% обстежених на І етапі пацієнток з ДППЗ).

На І етапі дослідження нестачу або дефіцит вітаміну D різного ступеня вираженості виявлено у 64,7 % жінок. Вкрай важкий дефіцит вітаміну D (рівень 25(ОН) D $8,98 \pm 1,68$ нг/мл) виявлений у 9,5 % обстежених, дефіцит вітаміну D (рівень 25(ОН) D $14,97 \pm 1,74$ нг/мл) – у 34,6 % жінок.

Серед пацієнток І-О і ІІ-О клінічних груп з ДППЗ репродуктивних органів рівень 25(ОН) D в середньому складав $19,7 \pm 9,9$ нг/мл, при $41,8 \pm 3,6$ нг/мл у контрольній групі p<0,001), при цьому розкид показників складав від 4,7 нг/мл до 24,1 нг/мл. Тільки у 14,2 % пацієнток І-О і ІІ-О клінічних груп мала місце нестача вітаміну D (рівень 25(ОН) D $20,2 \pm 1,5$ нг/мл). Більш виражений дефіцит вітаміну D (рівень 25(ОН) D від 5,9 до 12,2 нг/мл) частіше виявлявся у жінок І-О і ІІ-О з надлишковою масою тіла (ІМТ 27-29,9 кг/м²) та ожирінням (ІМТ 30–34,9 кг/м²).

Серед пацієнток І-П і ІІ-П клінічних груп з ДППЗ репродуктивних органів, включених у дослідження, рівень 25(ОН) D в середньому складав $30,9 \pm 1,1$ нг/мл, тоді як у контрольній групі – $41,8 \pm 3,6$ нг/мл, p<0,01).

За даними клінічного і УЗ-обстеження молочних залоз фіброзно-кістозна мастопатія була діагностована у 88,1% пацієнток, включених у дослідження. В основних клінічних групах звертала на себе увагу більша частка пацієнток з надмірною масою тіла (ІМТ в середньому $32,7 \pm 2,3$ кг/м²) (39,7% і 58,2% при 12,0% і 20,0% у групах порівняння відповідно, p<0,05).

Аналіз результатів гістологічного дослідження проб ендометрія, отриманих при пайпель-біопсії, показав, що у пацієнток з субклінічним гіпотиреозом і дефіцитом вітаміну D комплексна гіперплазія ендометрія виявлялась у 2,1 разів частіше, ніж проста гіперплазія ендометрію.

Дослідження рівня гонадотропних гормонів у сироватці крові засвідчило у пацієнток з субклінічним гіпотиреозом та ДППЗ репродуктивних органів відсутність циклічності гонадотропної активності з підвищенням рівня ЛГ, абсолютне або відносне підвищення рівня естрадіолу впродовж МЦ; недостатність лютеїнової фази циклу. При гіпотиреозі змінюється метаболізм естрадіолу: замість нормального 2-гідроксилювання з утворенням активних катехолестрогенів відбувається переважно 16-гідроксилювання з утворенням агресивного індуктора проліферації 16α-гідроксіестрону (16α-ОНЕ1). Показовою виявилась зміна співвідношення Е/П: у жінок з еутиреоїдним станом при відсутності патології репродуктивних органів співвідношення Е/П склало $5,0 \pm 0,2$, тоді як у пацієнток з ДППЗ при субклінічному гіпотиреозі наряду з достовірним зниженням рівня прогестерону (p<0,05) співвідношення Е/П становило $25,5 \pm 0,4$ (p<0,001), що свідчить про прогресування гіпопрогестеронемії. Зменшення вираженості клінічних проявів після перших 3 місяців терапії спостерігалась у всіх сформованих групах, однак з різною вираженістю – 53,4% у І-О, 49,1% у ІІ-О і 24,0% у І-П, 16,7% у ІІ-П.

Аналіз ефективності 6-ти місячного лікувально-реабілітаційного курсу терапії показав позитивну клінічну динаміку у 92,0% пацієнток основних груп, за даними гормонального обстеження спостерігалось відновлення співвідношення ФСГ/ЛГ, зменшення співвідношення Е/П, що закономірно відбилося на стані ендометрія (табл. 1).

Таблиця 1 Стан ендометрію у пацієнток клінічних груп після застосування лікувально-реабілітаційного комплексу (за даними пайпель-біопсії)

Клінічні групи	Стан ендометрія		
	Секреторна фаза	Недружня секречія	Проста гіперплазія
Основні групи (І-О, ІІ-О) n=113	104 (92.0%) *	8 (7,1%) *	1 (0,9%)*
Групи порівняння (І-П, ІІ-П) n=55	25 (45,5%)	25 (45,5%)	5 (9,0 %)

* достовірність відмінностей порівняно з групою порівняння (P<0,05)

Оцінка ефективності запропонованого лікувально-реабілітаційного комплексу у пацієнок з нереалізованими репродуктивними планами підтвердила його ефективність, оскільки у вибранний період спостереження (6 місяців після завершення лікування) у 25,5 %жінок II-О групи підтверджено маткову вагітність без застосування ДРТ, тоді як у II-П групі маткова вагітність підтверджена тільки

у 6,7% жінок.

Висновки з данного дослідження та перспективи.

Позитивні ефекти лікувальних інтервенцій при ДППЗ репродуктивних органів на тлі коморбідної патології мають ґрунтуватися на мультифокальних впливах полікомпонентної терапії з багатовекторними універсальними антиестрогенними і антипроліферативними ефектами. Отримані нами попередні позитивні результати свідчать про перспективність зазначених підходів та визначають доцільність та актуальність продовження пошуку оптимальних методів лікування поєднаних дисгормональних захворювань репродуктивної системи.

Список літератури

1. Радзинский ВЕ. Молочные железы и гинекологические болезни: от общности патогенетических воззрений к практическим решениям. — М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2012; 16.
2. Кэттайл ВМ, Арки РА. Патофизиология эндокринной системы СПб. М.: «Изд-во БИНОМ», 2001; 336.
3. Aloia JF. Clinical Review: The 2011 report on dietary reference intake for vitamin D: where do we go from here? J Clin Endocrinol Metab. 2011; (96): 2987–2996
4. Baird DD, Hill MC, Schectman JM, Hollis BW. Vitamin D and the risk of uterine fibroids. Epidemiology. 2013; 24 (3):447–453.
5. Brown J, Farquhar C. Endometriosis: an overview of Cochrane Reviews. Cochrane Database Syst Rev 2014 Mar 10;3:CD009590
6. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2011; 96 (7): 1911-1930.
7. Garland CF. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. Ann. Epidemiol. 2009; (19):468–483.
8. Guo SW. Epigenetics of endometriosis. Mol Hum Reprod. 2009; (15):587- 607.
9. Latthe P, Mignini L, Gray R, et al. Factors predisposing women to chronic pelvic pain: systematic review. BMJ. 2006; (332): 74-75.
10. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Mechanisms in endocrinology: Vitamin D and fertility: a systematic review. Eur J Endocrinol. 2012; (166): 765-778.
11. Peltomäki P, Bützow R. Endometriosis as an epigenetic disease. Epigenomics 2011; (3) :690-1.
12. Redmond GP. Thyroid dysfunction and women's reproductive health. Thyroid. 2004; 14 (Suppl. 1): 5-15.
13. Sinai N, Cleary SD, Ballweg ML, et al. High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. Human Reprod. 2002;17:10:2715-2724

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Иванова И.Д.,
Сабари Х.И.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, 197376,
Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, Российская Федерация

РЕДКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ. ИЗМЕНЕНИЯ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ ПРЕПАРАТАМИ БОЛЬНЫХ ОРФАННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ.

Орфанные заболевания затрагивают каждую область медицины. Множество редких заболеваний характеризуется широким спектром расстройств и симптомов, которые варьируют не только при разных заболеваниях, но у разных пациентов, страдающих одним и тем же заболеванием. Относительно часто встречающиеся симптомы могут маскировать лежащее в основе редкое заболевание. Примерно 80% из них имеют генетическую природу. 20% являются следствием инфекций (бактериальных или вирусных), аллергических реакций, воздействия вредных факторов окружающей среды или носят дегенеративный или пролиферативный характер.

Ключевые слова: орфанные заболевания, орфанные препараты, статус орфанных заболеваний, Акт об орфанных препаратах

По действующему законодательству *орфанными* (от англ. orphan-сирота) на территории Российской Федерации считаются те заболевания, распространенность которых не более 10 случаев на 100 000 населения (т.е. частота встречаемости 1 к 10 000). В различных странах этот показатель отличается друг от друга, т.к. на сегодняшний день нет установленных единых мировых стандартов.

Одним из сложных вопросов традиционно является вопрос лекарственного обеспечения льготных категорий граждан. Для обеспечения льготных категорий жителей Санкт-Петербурга лекарственными препаратами и медицинскими изделиями в 2017 году были выделены ассигнования в размере около 9,3 млрд. руб., из них:

-2,05 млрд руб. из федерального бюджета

-3,15 млрд руб. из федерального бюджета на 7 высокочувствительных нозологий

-4,1 млрд руб. из регионального бюджета.

По сравнению с 2016 годом, финансирование в РФ выросло с 935,81 млн рублей до 940,26 млн рублей. Увеличилось количество больных, включенных в список финансирования лекарственными препаратами, за счет улучшения диагностики орфанных заболеваний.

Аналитическая компания «Evaluate Pharma» предоставила данные:

объем продаж орфанных препаратов в США, ЕС и Японии будет уверенно увеличиваться до 2020 г. Причиной является снижение затрат на разработку орфанных препаратов по сравнению с инновационными лекарственными средствами, предназначенными для лечения заболеваний в большой популяции, повышении продуктивности таких разработок по сравнению с последними и др. Одной из ключевых законодательных инициатив, призванных стимулировать разработку орфанных лекарственных средств, является продление срока их патентной защиты по сравнению с другими инновационными лекарственными средствами.

Фармацевтическим компаниям, занимающимся разработками орфанных лекарственных

средств в США, предоставляют различные финансовые льготы для осуществления своих проектов. Таким компаниям полагается 50% налоговый кредит на R&D-расходы. Также правительство США дает гранты на проведение I–III фазы клинических исследований продуктов, предназначенных для лечения редких заболеваний, в объеме 30 млн дол. США. Отменены налоговые сборы с потребителей этой продукции, что делает ее более доступной и способствует увеличению объема продаж таковой в натуральном выражении. Данные отчета «Orphan Drug Report 2014» отображают долю орфанных препаратов в общем объеме продаж рецептурных лекарственных средств (за исключением генериков) к 2020 г. составит 19,1% (около 176 млрд дол. США), при этом среднегодовой прирост (CAGR) в период 2014–2020 гг. в денежном выражении составит 10,5%. Для сравнения среднегодовой прирост (CAGR) доли лекарственных средств для лечения заболеваний, часто выявляемых в популяции и не относящихся к орфанным, за данный период составит лишь 4,3%, а рецептурных лекарственных средств — 5,3%. Следовательно, можно проследить четкую тенденцию, способствующую увеличению доли орфанных препаратов в общем объеме продаж рецептурных лекарственных средств (за исключением генериков) начиная с 8,9% в 2006 г. до 19,1% в 2020 г. При этом их удельный вес в 2014 г. составил 14,3%.

(Объем продаж орфанных препаратов в денежном выражении на мировом рынке в 2006–2017 гг. и прогноз до 2020 г. с указанием их доли в объеме продаж рецептурных лекарственных средств. Источник данных: отчет «Orphan Drug Report 2014» аналитической компании «EvaluatePharma».)

По прогнозам аналитической компании «Evaluate Pharma», в топ-10 фармацевтических компаний по объему продаж орфанных препаратов в денежном выражении на мировом рынке в 2020 г. войдут компании «Bristol-Myers Squibb», «Novartis», «Celgene», «Roche», «Pfizer», «Alexion

Pharmaceuticals», «Sanofi», «Vertex Pharmaceuticals», «GlaxoSmithKline», «Merck & Co»

Лидирующую позицию в этом рейтинге занимает компания «Novartis» с объемом продаж орфанных препаратов на мировом рынке в 11,3 млрд дол.

(Топ-10 фармацевтических компаний по объему продаж орфанных препаратов на мировом рынке в денежном выражении в 2020 г. и данный показатель по итогам 2013 г. Источник данных: отчет «Orphan Drug Report 2017» аналитической компании «EvaluatePharma».

Среди орфанных препаратов, которые сейчас находятся в стадии разработки, в топ-10 наиболее перспективных попали кандидаты в препараты таких фармацевтических компаний, как «Vertex Pharmaceuticals» (2 продукта), «Intercept Pharmaceuticals», «Northwest Biotherapeutics», «Actelion», «AbbVie» и «Alexion Pharmaceuticals». Преимущество орфанных препаратов заключается в том, что им не грозит конкуренция, поскольку их дженерики появляются на рынке крайне редко.

Кроме того, если препарату присвоен статус орфанного, то процедура одобрения регуляторами проходит намного быстрее, а клинические испытания обходятся компаниям дешевле

По прогнозам, к 2018 году рынок орфанных препаратов будет оцениваться в \$127 млрд и достигать 16% от рынка рецептурных препаратов.

Выводы: Ситуация с организацией медицинской и социальной помощи больным редкими заболеваниями в нашей стране и мире с каждым годом улучшается. Подводя итоги статьи, можно с уверенностью сказать что:

1. С каждым годом увеличивается государственное финансирование на здравоохранение и в частности на борьбу с орфанными заболеваниями

2. Фармацевтическим коммерческим компаниям стало выгодно разрабатывать и продвигать препараты за счет увеличения льгот и поощрений со стороны государства.

3. Уже давно существует сайт, которое называется «Всероссийское общество

орфанных заболеваний», их целью является помощь врачам, пациентам и их семьям, которые столкнулись с необходимостью диагностики редкого наследственного заболевания или хотят получить наиболее полную информацию о болезни.

4. Сотни редких заболеваний уже можно диагностировать различными методами анализа биологических образцов (биохимическими, иммунологическими, цитогенетическими, молекулярно-генетическими и др. В Московском физико-техническом институте (МФТИ) открылся уникальный геномный центр. В нём будут производиться тест-системы, которые позволят диагностировать орфанные заболевания, вызванные генетическими сбоями.

Литература

1. Косякова Н.В., Гаврилина Н.И. Орфанные заболевания – история вопроса и современный взгляд на проблему// Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2-2;

2. О проблеме редких заболеваний в Российской Федерации. – Здравоохранение. – 2011. – № 11. – С. 4-5.

3. <http://izron.ru/articles/aktualnye-voprosy-sovremennoy-meditsiny-sbornik-nauchnykh-trudov-po-itogam-mezhvuzovskoy-ezhegodnoy-sektsiya-49-organizatsiya-farmatsevticheskogo-dela-spetsialnost-14-04-03/problemy-orfannykh-bolnykh-v-rossii/>

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

Baltina L.A.

doctor of chemistry, professor, leading researcher, Ufa Institute of Chemistry-
Subdivision of the Ufa Federal Research Centre RAS

Khisamutdinova R.Yu.

Ph.D. of biology, assistant, Ufa Institute of Chemistry-
Subdivision of the Ufa Federal Research Centre RAS

Gabdrakhmanova S.F.

assistant, Ufa Institute of Chemistry –
Subdivision of the Ufa Federal Research Centre RAS

Makara N.S.

assistant, Ufa Institute of Chemistry-
Subdivision of the Ufa Federal Research Centre RAS

Sapozhnikova T.A.

Ph.D. of biology, assistant, Ufa Institute of Chemistry-
Subdivision of the Ufa Federal Research Centre RAS

Shabieva E.R.

Student of the technical chemistry department, Bashkir State University

Baltina L.A. (jr.)

Ph.D. of pharmacy, assistant, Ufa Institute of Chemistry-
Subdivision of the Ufa Federal Research Centre RAS

Petrova S.F.

assistant, Ufa Institute of Chemistry- Subdivision of the Ufa Federal Research Centre RAS

Kondratenko R.M.

doctor of chemistry, professor of general chemistry department,
Bashkir State Medicinal University

Балтина Л.А.

доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник,
Уфимский Институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Хисамутдинова Р.Ю.

кандидат биологических наук, научный сотрудник Уфимский Институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Габдрахманова С.Ф.

младший научный сотрудник, Уфимский Институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Макара Н.С.

младший научный сотрудник, Уфимский Институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Сапожникова Т.А.

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Уфимский Институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Шабиева Э.Р.

студентка кафедры технической химии,
ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет

Балтина Л.А. (мл.)

кандидат фармацевтических наук, научный сотрудник Уфимский Институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Петрова С.Ф.

младший научный сотрудник, Уфимский Институт химии – обособленное
структурное подразделение ФГБНУ УФИЦ РАН

Кондратенко Р.М.

доктор химических наук, профессор кафедры общей химии,
ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ

**NEUROPHARMACOLOGIC PROPERTIES OF PAEONIFLORIN FROM PAEONIA ANOMALA
ROOTS AND ITS METHYL ETHER**

**НЕЙФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПЕОНИФЛОРИНА ИЗ КОРНЕЙ ПИОНА
УКЛОНЯЮЩЕГОСЯ (PAEONIA ANOMALA) И ЕГО МЕТИЛОВОГО ЭФИРА**

Summary: An improved method is proposed for peoniflorin (PF) extracting from the *Paenonia anomala* L. roots (yield 1.3-1.5% in terms of the mass of air-dry raw material, purity $97.0 \pm 0.5\%$ by HPLC). Antihypoxic, neuroleptic and antidepressant activity of PF was studied for the first time *in vivo* experiments in rats and mice with single oral administration at 50 mg/kg dose in comparison with the known nootropic drug piracetam in a therapeutic dose (400 mg/kg). In conditions of acute stress, the PF showed neuroleptic and antidepressant effects similar to piracetam. PF had no effect on the life span of mice under conditions of normobaric hypoxia. The mnestic activity of PF and its 4-O-methyl ester in the test of the conditioned reflex of passive avoidance in old rats was studied. The mnestic activity of 4-O-methyl-PF at a dose of 50 mg/kg was similar to that of piracetam at a dose of 400 mg/kg.

Аннотация: Предложен улучшенный метод выделения пеонифлорина (ПФ) из корней пиона уклоняющегося (*Paenonia anomala* L.) (выход 1.3-1.5% в пересчете на массу воздушно-сухого сырья, чистота $97.0 \pm 0.5\%$ по ВЭЖХ). Впервые изучена антигипоксическая, нейролептическая и антидепрессантная активность ПФ в экспериментах *in vivo* на крысах и мышах при однократном пероральном введении в дозе 50 мг/кг в сравнении с известным ноотропным препаратом пираретамом в лечебной дозе (400 мг/кг). В условиях острого стресса ПФ проявил нейролептическое и антидепрессантное действия аналогичные пираретаму. ПФ не оказывал влияния на продолжительность жизни мышей в условиях нормобарической гипоксии. Изучена мнестическая активность ПФ и его 4-О-метилового эфира в тесте выработки условного рефлекса пассивного избегания у старых крыс. Мнестическая активность 4-О-метил-ПФ в дозе 50 мг/кг была аналогична активности пираретама в дозе 400 мг/кг.

Ключевые слова: *Paenonia anomala*, пеонифлорин, 4-О-метил-ПФ, нейротропная активность

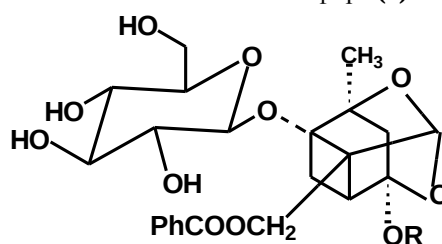
Введение

Поиск новых биологически активных веществ с нейротропным действием среди растительных метаболитов и их производных является одним из перспективных подходов при разработке новых лекарственных средств коррекции болезни Альцгеймера (БА) – нейродегенеративного заболевания, характеризующегося прогрессирующим снижением когнитивных и поведенческих функций, которым страдают около 30 млн. человек пожилого возраста во всем мире [1,2]. К числу природных соединений, представляющих интерес для медицины в качестве основы для получения новых нейротропных агентов, можно отнести растительный монотерпеновый гликозид пеонифлорин (ПФ) (1), который является биологически активным вторичным метаболитом корней пионов (*Paenonia*) различных видов [3-5]. ПФ обладает широким спектром фармакологической активности (антипролиферативной, противоопухолевой, гепатопротекторной, иммуномодулирующей, антиаллергической, противовоспалительной, антиоксидантной) [6-10]. ПФ снижает уровень воспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухолей (TNF- α), интерлейкины IL-1 β и IL-6 PF [11], оказывает нейропротективные эффекты на моделях нейродегенеративных заболеваний мышей, защищает мозг от нейротоксического действия бета-амилоидного комплекса, который рассматривается как одна из причин развития БА,

подавляет индуцированное бета-амилоидным комплексом воспаление соединительной ткани нервной системы *in vitro* [12,13].

Доступным растительным сырьем для получения ПФ является пион уклоняющийся (*Paenonia anomala* L.) рода пионовых (*Paeniaceae*) семейства лютиковых (*Ranunculaceae*) - распространенное дикорастущее лекарственное растение Европейской части РФ и Сибири, который имеет ареалы распространения также в Казахстане, Средней Азии, Монголии и Китае, горах Тянь-Шаня и Памиро-Алтая [14]. Корни пиона уклоняющегося широко используются в народной медицине в России под названием «Марьин корень» (жгун-корень) в качестве противовоспалительного средства и при желудочно-кишечных заболеваниях [15]. Настой корневищ и корней пиона уклоняющегося (*Rhizomata et radices Paenoniae anomalaе*) и настойка пиона на 40% этиловом спирте (*Tinctura Paenoniae*) из корневищ, корней и травы пиона уклоняющегося используется как седативное средство при невралгии, вегето-сосудистой дистонии и бессоннице [16]. Ранее ПФ был выделен из корней дикорастущего пиона уклоняющегося сибирских популяций путем экстракции кипящим метанолом с выходом 1.3% в пересчете на массу сухих корней [17].

Целью данной работы является улучшение метода выделения ПФ из корней пиона уклоняющегося и изучение некоторых нейрофармакологических свойств ПФ и его производного - 4-О-метилового эфира (2) в экспериментах на крысах и мышах.



1 R = H
2 R = Me

Результаты и обсуждение

С целью замены токсичного метанола, используемого в способе [17], мы выделяли ПФ из порошка воздушно-сухих корней дикорастущего пиона уклоняющегося (*Raemonia anomala*) (Алтай) путем экстракции 95% и 70% этанолом при кипячении с последующим упариванием этанольного экстракта, разбавлением экстракта теплой водой (40-50 °C) и экстракцией водного раствора сначала этилацетатом, затем н-бутанолом. Упариванием бутанольного экстракта получали концентрированный экстракт в виде сиропа, кото-

рый разделяли препаративной колоночной хроматографией (КХ) на силикагеле (СГ). Выход ПФ (содержание $97.0 \pm 0.5\%$ по данным ВЭЖХ, рис. 1) составил 6.5-7.5 г (1.3-1.5% в пересчете на массу порошка воздушно-сухих корней). Физико-химические и спектральные характеристики ПФ совпали с литературными данными [17]. 4-О-метилловый эфир ПФ (2) получали по методике [18] путем реакции ПФ с метанолом при кипячении в присутствии катионита Ку-2-8 (H^+). В спектре ЯМР ^{13}C атомы углеродов C-9 и C-4 имеют значения химических сдвигов, аналогичные таковым в работе [18].

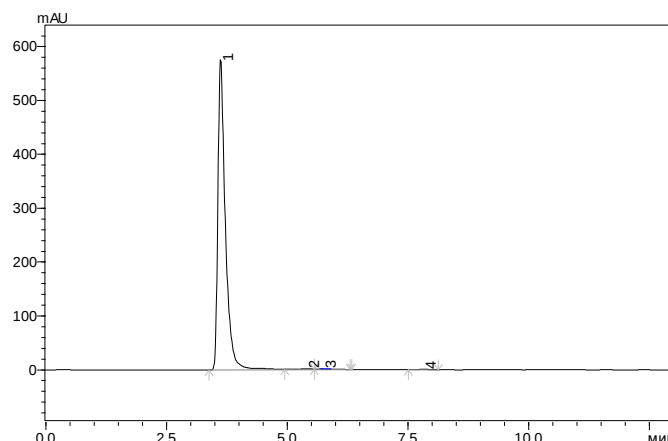


Рис. 1. ВЭЖХ ПФ. Колонка Bondapak C18 (300×3.9 mm, 10 μm) (Waters, USA); подвижная фаза - MeOH:0.3N AcOH (90:10, vol.%); скорость потока 0.8 ml/min; УФ-детектор (254 nm). Содержание основного вещества $97.0 \pm 0.5\%$.

Впервые изучена антигипоксическая, анксиолитическая и антидепрессантная активность ПФ при пероральном введении в дозе 50 мг/кг в экспериментах *in vivo*, которые проводили на крысах линии Вистар обоего пола и беспородных мышам-самцах. В качестве препарата сравнения использовали известный ноотропный препарат пирацетам в лечебной дозе 400 мг/кг [19].

Нормобарическую гипоксию с гиперкапнией моделировали в гермокамерах (объемом 200 см³) согласно [20]. В условиях экспериментальной нормобарической гипоксии с гиперкапнией препарат сравнения пирацетам увеличивал время выживания мышей по сравнению с контролем лишь на 4.8%, а ПФ не проявил противогипоксических свойств.

Анксиолитическую активность ПФ изучали на крысах в тесте экстраполяционного избавления (ТЭИ) с помощью установки «Экстраполяционное избавление», регистрируя латентный период двигательной активности, число безуспешных попыток избегания (прыжки) и латентный период подныривания под край цилиндра в течение 2 мин согласно [21]. ТЭИ позволяет изучить влияние потенциальных ноотропных соединений на когнитивные функции крыс в условиях острого стресса. Увеличение

числа безуспешных попыток избегания (прыжки) является следствием тревожности лабораторных животных, что приводит к снижению у них когнитивных функций [22].

Результаты теста приведены в табл. 1. Число безуспешных попыток избегания в группах интактного контроля, группе животных, получавших препарат сравнения пирацетам и ПФ, было на одном уровне и составило 9.0 ± 1.2 , 8.8 ± 2.1 и 11.1 ± 1.0 прыжков, соответственно. Латентный период двигательной активности в группе ПФ был меньше (6.4 ± 1.3 сек.), чем у животных в группах, получавших пирацетам (10.6 ± 2.2 сек.), и группе интактного контроля (12.0 ± 2.7 сек.), т.е. животные быстрее ориентировались в незнакомых условиях и предпринимали попытки выбраться. ПФ в условиях острой стрессовой ситуации позитивно влиял на когнитивные функции крыс, устраняя тревогу, беспокойство, страх и тем самым помогая решить поставленную перед ними задачу – подныривание под край цилиндра происходило на 30.6% быстрее, чем у контрольных животных. Препарат сравнения пирацетам помогал решить эту задачу лишь на 23% быстрее контроля.

Таблица 1. Влияние ПФ на когнитивные функции у крыс в тесте «Экстраполяционное извлечение»

Группы	Латентный период двигательной активности, сек.	Число безуспешных попыток избегания, шт.	Латентный период подныривания, сек.
Контроль (интактный)	12.0 ± 2.7	9.0 ± 1.2	104.4 ± 12.6
Пирацетам	10.6 ± 2.2*	8.8 ± 2.1*	80.5 ± 11.6*
Пеонифлорин	6.4 ± 1.3*	11.1 ± 1.0*	72.5 ± 13.0*

Значение ±S.E.; число животных в группах n=8; *достоверно относительно контроля, p<0.05

Тест отчаяния (беспомощности) по методу Порсолта применяется для выявления психостимулирующей активности у соединений [20]. Животные, попадая в воду, начинают проявлять бурную двигательную активность, направленную на поиск выхода из авersive (неприятной) ситуации. Затем животные оставляют попытки выбраться из сосуда и зависают в воде в характерной позе, оставаясь полностью неподвижными или совершая незначительные движения, необходимые для поддержания морды над поверхностью воды. Показателем поведения отчаяния по данному тесту является длительность неподвижности животных (иммобилизации). Состояние иммобилизации оценивают визуально. Вещества с психостимулирующей активностью облегчают это состояние, уменьшая длительность иммобилизации [23].

Результаты экспериментов на мышах по тесту отчаяния для ПФ в сравнении с пирацетамом приведены в табл. 2. Во всех группах при помещении мышей в воду они начинали активно плавать в поисках выхода (латентный период иммобилизации). Более продолжительное плавание до иммобилизации наблюдали у животных, получавших пирацетам – 59% (92.3±10.4 сек.), затем в группе животных, получавших ПФ – 7% (62.1±6.7 сек.) относительно контроля. Через некоторое время животные «зависали» без движения. Продолжительность иммобилизации в группе ПФ была наименьшей и составила 49.4% (11.1±1.8 сек.) относительно контроля. В группепирацетама этот показатель превосходил контроль на 18% (18.0±3.1 сек.). Общее время плавания при этом в группах животных, получавших пирацетам и ПФ, увеличилось в среднем на 45% относительно контроля.

Таблица 2. Влияние пеонифлорина на поведение мышей в тесте "Поведение отчаяния"

Группы	Латентный период иммобилизации, сек.	Продолжительность иммобилизации, сек.	Общее время плавания, сек.
Контроль (интактный)	58.0±10.4	22.0±7.1	200.8±43.4
Пирацетам	92.3±10.4*	18.0±3.1*	296.5±27.2
Пеонифлорин	62.1±6.7*	11.1±1.8*	290.9±41.3

Значения ± S.E., число животных в группах n = 8; * достоверно относительно контроля, p<0.05

Изучена специфическая ноотропная активность ПФ и его 4-О-метилового эфира (2) в тесте выработки условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) у старых крыс линии Вистар обоего пола 18-месячного возраста в сравнении с пирацетамом согласно [20,24]. Для старых животных характерно развитие мнестических дефицитов с ухудшением процессов запоминания и извлечения памятного следа, что позволяет моделировать имитации нарушений памяти, характерные для болезни Альцгеймера [25].

Метод состоит из двух этапов: обучение навыку и воспроизведение его сохранности. Результаты экспериментов приведены в табл. 3. ПФ и 4-О-метил-ПФ (2) проявили ноотропное действие, улучшая память о болевом раздражении на этапе ввода и первоначальной обработки информации у старыхкрыс. Мнестическая активность производного ПФ (2) в дозе 50 мг/кг была аналогична активности пирацетама в дозе 400 мг/кг на модели выработки УРПИ у старых животных.

Таблица 3. Влияние пеонифлорина и его эфира (2) на сохранение рефлекса УРПИ у старых крыс (n=6)

Группы	1 день (обучение)		2 день (воспроизведение навыка)				
	Кол-во заходов	Латентный период, сек.	Кол-во заходов	Латентный период, сек.	Время, в темной камере, сек.	Не вошедшие в темную камеру	M _t , %
Контроль	2.2±0.2	8.0	1.5±0.2	6.5	235.5	0	-
Пирацетам	1.3±0.3	7.5	0.3±0.2	300.0*	0.0*	4/6	77.6
П ПФ	1.3±0.2	17.5*	1.7±0.5	26.5	147.0*	1/6	36.5
MeПФ (2)	1.7±0.3	8.5*	1.0±0.3	27.5*	19.5*	1/6	71.0

*M_t - мнестическая активность (%); n – количество животных в группе; * - P<0,05 относительно контроля

Выводы: Таким образом, проведенные исследования показали, что ПФ в дозе 50 мг/кг проявляет анксиолитический и психостимулирующий эффекты, позитивно влияя на когнитивные функции в условиях стрессовых ситуаций у мышей и крыс. При этом ПФ не оказывал влияния на продолжительность жизни в условиях нормобарической гипоксии у мышей. Химическая модификация ПФ (4-О-метилирование) оказывает существенное влияние на ноотропную активность. На основании полученных результатов нейрофармакологических исследований ПФ перспективен для использования в качестве скаффолда для получения новых ноотропных агентов.

Экспериментальная химическая часть

В качестве растительного сырья использовали воздушно-сухие корнидикорастущего пиона уклоняющегося (*P. anomala* L.) (Алтай) [17]. ВЭЖХ анализ проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 (Shimadzu, Japan), снабженном спектрофотометрическим диодным матричным детектором при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ на обращенно-фазовой колонке Bondapak C18 (300×3.9 mm, $10 \mu\text{m}$) (Waters, USA). УФ-детекция проводилась при 254 нм. В качестве подвижной фазы использовали смесь метанол - 0.3N уксусная кислота, 90:10 (vol.%). Скорость потока подвижной фазы 0.8 мл/мин. Для колоночной хроматографии использовали силикагель КСК (фракция 50-150 мкм) (Сорбополимер). Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Сорбфил (Сорбополимер). Пятна веществ обнаруживали 5% раствором H_2SO_4 в этаноле с последующим нагреванием при $110-120^\circ\text{C}$ в течение 2-3 мин.

Оптическую активность измеряли на поляриметре Perkin-Elmer 341 MC в кювете длиной 1 дм. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали на спектрометрах Bruker Avance-III с рабочей частотой 500 МГц (^1H) и 125 МГц (^{13}C). Химические сдвиги приведены в м.д. относительно сигнала внутреннего стандарта – тетраметилсилана (ТМС).

Растворители упаривали в вакууме при температуре $40-50^\circ\text{C}$.

Выделение пеонифлорина из корней пиона

Воздушно-сухие корни пиона размельчали до порошка и экстрагировали порошок (500 г) 95% этанолом ($900 \text{ мл} \times 3$), затем 70% этанолом ($900 \text{ мл} \times 2$) при кипячении в течение 1-2 ч. После охлаждения до комнатной температуры этанольные экстракты объединяли и упаривали в вакууме до темно-коричневого сиропа (138-140 г), который разбавляли теплой дистиллированной водой ($40-50^\circ\text{C}$) до растворения. Водный раствор экстрагировали дважды этилацетатом ($100 \text{ мл} \times 2$), затем н-бутанолом ($100 \text{ мл} \times 3$). Бутанольные экстракты объединяли и упаривали в вакууме, получая концентрированный сиропобразный остаток ($30.7-31.3$ г). Полученный концентрат помещали на препаративную колонку ($120 \text{ см} \times 4.0 \text{ см}$) с силикагелем КСК (фракция 50-150 мкм) (Сорбополимер) и элюировали градиентной смесью хлороформа-этанола ($200:1 \rightarrow 5:1$, v/v), отбирая фракции по 20-30 мл. Ин-

дивидуальные по ТСХ фракции объединяли и упаривали. Идентификацию образцов пеонифлорина проводили по ТСХ с заведомым образцом, полученным по ранее описанной методике [17]. Выход $6.5-7.5$ г ($1.3-1.5\%$ в пересчете на массу сухого порошка корней) (аморфное вещество), содержание основного вещества $97.0 \pm 0.5\%$ (рис. 1). R_f 0.42 ($\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$, $45:10:1$), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -15.5^\circ$ (с 1.0, MeOH). Лит. [17]: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -15.6^\circ$ (с 4.5, EtOH). Спектр ЯМР ^1H (CD_3OD , δ , м.д., J/Гц): 8.05, 8.04 (2H, оба д, J=7.2, H2'', H6''), 7.60 (1H, т, J=7.4, H4''), 7.48 (2H, т, J=7.8, H3'', H5''), 5.44 (1H, с, H9), 4.75 (2H, д, J=2.9, 2H8), 4.54 (1H, д, J=7.7, H1'), 3.84 (1H, д, J=11.5, H6'b), 3.62 (1H, д.д., J1=12.0, J2=5.0, H6'a), 3.33-3.21 (4H, м, H2'-H5'), 2.64 (1H, д, J=7.0, H5a), 2.49 (1H, д.д., J1=11.0, J2=6.8, H1b), 2.18 (1H, д, J=12.5, H6b), 1.97 (1H, д, J=10.9, H1a), 1.84 (1H, д, J=11.3, H6a), 1.37 (3H, с, CH₃). Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.): 166.6 (C7''), 133.1 (C4''), 129.8 (C1''), 129.4, 129.3 (C2'', C6''), 128.3 (C3'', C5''), 105.0 (C4), 100.9 (C9), 98.8 (C1'), 87.9 (C1), 85.9 (C2), 76.6, 76.5 (C3', C5'), 73.6 (C2'), 70.8 (C7), 70.3 (C4'), 61.5 (C6'), 60.3 (C8), 43.2 (C3), 42.5 (C5), 22.0 (C6), 18.3 (C10).

4-О-метил-пеонифлорин (2) получали из 0.96 г (2 ммоль) ПФ по методике [18] и сравнивали по ТСХ с заведомым образцом. Выход 0.42 г (42%). $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -13.5^\circ$ (с 0.06, MeOH). Лит. [18]: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -13^\circ$ (с 0.04; EtOH). Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD , δ , м.д.): 167.1 (C7''), 146.1, 134.1, 130.8, 139.3, 129.4, 129.2 (C1''-C6''), 109.7 (C4), 101.5 (C9), 99.4 (C1'), 88.2 (C1), 86.9 (C2), 77.8 (C5'), 77.3 (C3'), 74.7 (C2'), 71.4 (C4'), 63.6 (C6'), 62.7 (C8), 55.7 (C7), 51.9 (OCH₃), 49.3 (C5), 47.8 (C3), 23.2 (C6), 19.6 (C10).

Экспериментальная фармакологическая часть

Взрослые крысы линии Wistar (самки и самцы) весом 180-200 г и беспородные мыши-самцы весом 18-20 г были закуплены в питомнике лабораторных животных РАМН (Рапполово, Россия). Животные содержались в стандартных условиях вивария (температура $22 \pm 2^\circ\text{C}$, влажность $60 \pm 4\%$), на стандартном рационе. Этические принципы обращения с животными соблюдались в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. CETS № 123» (European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123). В качестве препарата сравнения для фармакологических исследований использовали пираретам («Оболенское», серия 60216). Исследуемое соединение – ПФ в дозе 50 мг/кг и препарат сравнения – пираретам в дозе 400 мг/кг вводили перорально за 1 час до начала эксперимента. Контрольные животные получали разводящий раствор (0,1% раствор ДМСО) в эквивалентном объеме.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Statistica 7.0 фирмы StatSoft. Данные представляли в виде средней величины (M) и их средних ошибок (s), медианы (Me) и квартилей (Q25; Q75) с оценкой достоверности межгрупповых различий по U-критерию. При $p < 0,05$ различия считали достоверными.

Нормобарическую гипоксию с гиперкапнией моделировали в гермокамерах (объемом 200 см³). Для воспроизведения этой формы гипоксии лабораторное животное помещали в стеклянную емкость указанного объема, которую герметично закрывали, при этом происходило постепенное снижение содержания кислорода и повышение рСО₂ в воздухе за счет дыхания животного [20].

Изучение анксиолитической активности проводили в тесте экстраполяционного избавления (ТЭИ) с помощью установок «Эстраполяционное избавление» (НПК Открытая Наука, Россия). Регистрировали латентный период двигательной активности, число безуспешных попыток избегания (прыжки) и латентный период подныривания под край цилиндра в течение 2 мин. [21].

Тест отчаяния (беспомощности) по методу Порсолта для выявления психостимулирующей активности ПФ проводили согласно [23]. Протокол эксперимента был адаптирован к условиям эксперимента. Мышей подвергали сессии плавания в течение 6 мин. Для теста использовали прозрачный цилиндр (Ø17 см), заполненный водой (+23°C). Путем визуального наблюдения регистрировали латентный период и продолжительность иммобилизации. За поведение иммобилизации принимали отсутствие любых направленных движений головы и тела животных. При наблюдении за животными засекали время их нахождения в воде. Критическим являлся момент, когда животное было не в состоянии удержаться над поверхностью воды самостоятельно. В этот момент мышь вынимали из воды, обсушивали полотенцем, и возвращали в клетку.

Специфическая ноотропная активность ПФ и его метилового эфира (2) в тесте выработки условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) у старых животных изучена согласно [20, 24]. Эксперимент проведен на 24 белых крысах линии Вистар обоего пола 18-месячного возраста массой 300 - 350 г. Установка для эксперимента УРПИ представляет собой два смежных отсека, один из которых большой, освещенный; другой – меньшего размера, затемненный, имеет электрифицированный пол. Метод состоит из двух этапов: обучение навыку и воспроизведение его сохранности. Во время обучения (первый день) крысу помещали на середину площадки освещенного отсека, хвостом к отверстию в темный отсек. Затем регистрировали: латентный период первого захода в темный отсек (время от момента помещения животного в середину площадки до первого захода в темный отсек), общее время наблюдения 5 минут (животных, не заходивших в темную камеру за это время, из опыта исключали). После каждого захода в темный отсек животному наносили электроболевое раздражение (50 В, 3 импульса по 1 с., с интервалом 0,5 с.). Производилась регистрация количества заходов в темный отсек. Воспроизведение навыка УРПИ осуществляли на следующие сутки (через 24 часа) после обучения (второй день эксперимента). Процедура воспроизведения и регистрируемые показатели соответствовали таковым при обучении, с той лишь разницей, что не производилась электроболевая стимуляция

животного. В первый день эксперимента (обучение) отмечали следующие показатели: количество заходов в темный отсек и латентный период первого захода. Во второй день эксперимента (воспроизведение) регистрировали латентный период первого захода, количество заходов в темный отсек, общее время нахождения в темном отсеке, а также подсчитывали количество крыс не вошедших в темную камеру и выражали в %.

Улучшение запоминания (мнестическую активность) вычисляли по формуле [2]:

$$M_t = [(t_k - t_{on}) / t_k] \times 100\%, \text{ где:}$$

M_t - мнестическая активность (%),

t_k - среднее время пребывания в темном отсеке животных контрольной группы,

t_{on} - среднее время пребывания в темном отсеке животных опытной группы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 15-03-03101a).

Литература

1. Phanka M. Alzheimer's disease and oxidative stress: a review. // Curr. Med. Chem. -2014. – V. 21. – P. 356-369.
2. Rampa A., Tarozzi A., Mancini F., Pruccoli L., Di Martino, R.M.C., Gobbi S., Bisi A., De Simone A., Palomba F., Zaccheroni N., Belluti F. Naturally inspired molecules as multifunctional agents for Alzheimer's Disease treatment. // Molecules. – 2016. – V. 21. – P. 543-559.
3. Lin H.-Ch., Ding H.-Y., Wu T.-Sh., Wu P.-L. Monoterpene glycosides from *Paeonia suffruticosa*. // Phytochemistry. – 1996. – V. 41. – P. 237-242.
4. Wang H.B., Gu W.F., Chu W.J., Zhang S., Tang X.C., Qin G.W., Monoterpene glycosides from *Paeonia lactiflora*. // J. Nat. Prod. – 2009. -Vol. 72. – P. 1321-1324.
5. Wu S.H., Wu D.G., Chen Y.W. Chemical constituents and bioactivities of plants from the genus *Paeonia*. // Chem. Biodivers. – 2010. – V. 7. – P. 90-104.
6. Li P., Zhang Z.-M., Li T., Zhang Y.-B., Wing Sze S.Ch., Wang G.-C., Li Y.-L., Ye W.-C. Monoterpene derivatives from the roots of *Paeonia lactiflora* and their anti-proliferative activity. // Fitoterapia. – 2014. – V. 98. – P. 124-129.
7. Zhang Q., Yuan Y., Cui J., Xiao T., Jiang D. Paeoniflorin inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells through suppressing Notch-1 signaling pathway. // Biomed. Pharmacother. – 2016. – V. 78. – P. 197-203.
8. Chen M., Cao L., Luo Y., Feng X., Sun L., Wen M., Peng Sh., Paeoniflorin protects against concanavalin A-induced hepatitis in mice. // Int. Immunopharm. – 2015. – V. 24. -P.42-49.
9. Zhai T., Sun Y., Li H., Zhang J., Huo R., Li H., Shen B., Li N. Unique immunomodulatory effect of paeoniflorin on type I and II macrophages activities. // J. Pharm. Sci. – 2016. – V. 130. – P. 143-150.
10. Sun J., Wu J., Xu Ch., Luo Q., Li B., Dong J. Paeoniflorin attenuates allergic inflammation in asthmatic mice. // Int. Immunopharm. – 2015. – V. 24. – P. 88-94.

11. Liu H., Wang J., Wang J., Wang P., Xue Y. Paeoniflorin attenuates A β 1-42 – induced inflammation and chemotaxis of microglia *in vitro* and inhibits NF-kB and VEGF/Flt-1 signaling pathways. // *Brain Res.* – 2015. – V. 1618. – P. 149-158.
12. Zhong S.-Z., Ge Q.-H., Li Q., Qu R., Ma Sh.-P. Paeoniflorin attenuates A β (1-42)-mediated neurotoxicity by regulating calcium homeostasis and ameliorating oxidative stress in hippocampus of rats. // *J. Neurol. Sciences.* – 2009. – V. 280. – P. 71-78.
13. Dong H., Li B., Yu C., Xu T., Zhang X., Dong N. Paeoniflorin inhibition of 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cells via suppressing reactive oxygen species-mediated PKC δ /NF-kB pathway. // *Neuroscience.* – 2015. – V. 285. – P. 70-80.
14. Тимохина С.А., Фризен Н.В., Власова Н.В., Зуев В.В., Ковтонюк Н.К., Байков К.С. Флора Сибири. Том 6. Portulacaceae – Ranunculaceae. / Под ред. Малышевой Л. И., Пешковой Г.А. - Новосибирск: ВО "Наука". - Сибирская издательская фирма. - 1993. - 310 с.
15. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири. / Отв. ред. А.В.Куминова. АН СССР. Сиб. отд-ние, Центр. Сиб. бот. Сад. 5-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск, Наука. - 1991. – 428 с.
16. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. – Москва, Медицина. - 1988. - 464 с.
17. Осадчий С.А., Черняк Е.И., Шакиров М.М., Шульц Э.Э., Толстиков Г.А. Корни пиона уклоняющегося (*Paeonia anomala* L.) сибирской популяции как источник гликозидов пaeонифлорина и пaeоновицианозида. // *Химия в интересах устойчивого развития.* – 2000. - № 8. - С. 399-403.
18. Baltina L.A., jr., Shabieva E.R., Kondratenko R.M., Spirikhin L.V., Baltina L.A.. Reaction of paeoniflorin with lower alcohols in the presence of cation exchanger. // *Chem. Nat. Compd.* – 2017. – V. 53. – P. 887-890.
19. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 14-е изд., Т. 2. Москва, Новая Волна. – 2000. – С. 111-113.
20. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. - Москва, Гриф и К. – 2012. - 944 с.
21. Tsypysheva I.P., Koval'skaya A.V., Lobov A.N., Salimgareeva M.Kh., Fatkullina U.Sh., Petrova P.R., Gabdrakhmanova S.F., Makara N.S., Suponitskii K.Yu., Vakhitova Yu.V., Zarudii F.S., Yunusov M.S. Synthesis and neuropharmacological activity of N-1-adamantylcytisine-12-carbamide and its 12-thiocarbonyl analog. // *Chem. Nat. Compd.* – 2013. – V. 49. – P. 701-711.
22. Бондаренко Н.А., Бондаренко Н.А. Индивидуальные различия поведения крыс в тесте «Экстраполяционное извлечение»: возможность выявления «тревожного фенотипа». // Тезисы Всеросс. конф. «Инновации в фармакологии: от теории к практике». -Спб, 27-28 октября 2014 г. – С. 28-30.
23. Каркищенко В.Н., Капаназе Г.Д., Денгина С.Е., Станкова Н.В. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов. // *Биомедицина.* -2011. - № 1. – С. 72-74.
24. Редкозубова О.М., Болкунов А.В., Ванкин Г.И., Ревущин А.В., Ерицын Н.Б., Маркова Н.А., Бачурин С.О., Стрекалова Т.В., Поведенческие признаки ангедонии и отсутствие поведения «отчаяния» на модели старческой депрессии у 18-месячных мышей C57BL/6. // *Патогенез.* -2013. – № 11. – С. 63-68.

Ильяс Т. М.*doctor of chemical sciences, professor,
General and Inorganic Chemistry
Baku State University***Gakhramanova G. H.***Phd student in General and Inorganic Chemistry
Baku State University***Gajali N.***doctor of chemical sciences, professor,
Caucasus University, Turkey
Department of General and Inorganic Chemistry
Baku State University***Ismailov Z. I.***Ph.D., Associate Professor
Department of General and Inorganic Chemistry
Baku State University***Ильяс Теймур Мамед,***доктор химических наук, проф.
заведующий кафедрой общей и неорганической химии,
Бакинский Государственный Университет***Гахраманова Гунель Гаджи***докторант, кафедра общей и неорганической химии,
Бакинский Государственный Университет***Гаджалы Наджафоглы,***доктор химических наук, проф.
Карсский Кавказский Университет, Турция***Исмаилов Закир Ислам,***кандидат технических наук, доцент
кафедры общей и неорганической химии,
Бакинский Государственный Университет*

СТЕКЛООБРАЗОВАНИЕ И СВОЙСТВА СТЕКОЛ СИСТЕМЫ Tm-As-S(Se). GLASS STRUCTURE AND PROPERTIES OF GLASSES OF THE Tm-As-S (Se) SYSTEM.

Abstract: Complex by methods of physical and chemical analysis, the Tm-As- (Se) ternary systems were studied in various sections. The regions of glass formation in various systems have been established in three cooling regimes,

1-2 dgr /min, 7-10 dgr/min, 450dgr / min. It is revealed that the glass formation area is quenched in water increasing. Some physicochemical properties of glasses have been studied, it is found that the value of macroscopic properties increases with increasing percentage of thulium in alloys.

Keywords: glass, cut, crystallization, microhardness, concentration.

Аннотация: Комплекс методами физико-химического анализа исследована тройные системы Tm-As-S(Se) по различным разрезам. Установлены области стеклообразования в трех режимах охлаждения 1-2 град/мин, 7-10 град/мин, 450град/мин. Выявлено, что область стеклообразования с увеличением скорости охлаждения увеличивается. Изучены некоторые физико-химические свойства стекол, обнаружено, что значение макроскопических свойств как температура стеклообразования (T_g), микротвёрдость (H_μ), плотность (d) увеличивается с увеличением процентного содержания тулия в сплавах.

Ключевые слова: стекло, разрез, кристаллизация, микротвёрдость, концентрация.

Введение

Для решения основной задачи современного материаловедения – создания материалов с техническими важными свойств и эксплуатационными характеристиками и необходимости установления функциональных связей «состав-свойство», «состав-структура и свойство», позволяющих вести целенаправленный поиск и синтез необходимых материалов с заранее заданными свойствами. Среди множества материалов, изучение которых входит в задачу неорганической химии, особое место занимает халькогенидные, в частности, халькогенидные стеклообразные полупроводники (ХСП).

Среди множества материалов, изучение которых входит в задачу неорганической химии, особое место занимает халькогенидные, в частности, халькогенидные стеклообразные полупроводники (ХСП).

ХСП хорошо изучены в работах [1-3], а также имеются работы в области ХСП с участием р, d и f элементов [3-6]. Как известно стеклообразные полупроводники (ХСП) и сплавы на их основе рекомендовали себя в качестве фоточувствительных и магнитооптических материалов [6-9]. В настоящей работе приводятся результаты исследования тройной системы Tm-As-S(Se). Для выяснения взаимо-

действия, а также установления области стеклообразования тройной системы Tm-As-S(Se) изучены различные разрезКак известно, в стеклообразном состоянии термодинамических неравновесных отсутствует дальний порядок и свойства, связанные с наличием симметрии при построений атомов в правильную кристаллическую решетку. Но в то же время, ряд важнейших параметров, связанных с ближним порядком остается, это в первую очередь относится к межатомным расстояниям и числе ближнего окружения атомов, которые как правило, мало меняется при переходе кристалл-стекло.

цель исследования

Целью настоящей работы является установление области стеклообразования в системе Tm-As-S(Se), а также изучения некоторых физико-химических свойств полученных стекол в зависимости от режима синтеза.

материал и методы исследования

Для приготовления образцов использовали As-В5, Tm и S-осч.

Синтез лигатур и тройных сплавов проводился прямым ампульным методом-ступенчато. с перва температуру печи поднимали до 450°C, при этой температуре металлы взаимодействуют с серой. Для расплавления сплавов температуру печи поднимали до 900-950°C, , далее выдерживая при этой

температуре 2 часа, затем сплавы охлаждали со скоростью 100°C в час до комнатной температуры

Сплавы исследованы комплекс методами физико-химического анализа. Дифференциально термический анализ проводили на терм анализаторе типа термоскан, рентгенофазовый анализ проводили на дифрактометре XRDD8 фирмы "Broker" на CuK α излучении, микроструктурный анализ проводили на микроскопе МИМ-7 и МИН-8. Микротвердость испытывали на микротвердомере ПМТ-3 при экспериментально установленных нагрузках.

результаты исследования и их обсуждение

В настоящей работе приводятся результаты исследования стекол, полученных на основе AsS,As₂S₃ и As₂Se₃ по следующим разрезам: As₂S₃-Tm, As₂S₃-TmS, As₂S₃-Tm₂S₃, As₂Se₃-Tm, As₂Se₃-TmSe, As₂Se₃-Tm₂Se₃,

Разрез As₂S₃- Tm. Исследование сплавов системы было начато изучением свойств исходных компонентов в трех режимах охлаждения 1-2 град/мин, 7-10 град/мин, 410град/минкак видно из таблица 1-14. Область стеклообразования с увеличением скорости охлаждения область стеклообразования увеличивается. После установления границы области стеклообразования, изучали физико-химические свойства стекол AsS-Tm, которые приводятся в таблицах 1,2,3

Таблица 1 Некоторые физико-химические свойства стекол разрезаAsS-Tm (скор.охл.v= 1-2 град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты нагревания, T,K			Микротвердость, Нц/м ² 10 ⁷	Плотность d, г/см ³	Результаты МСА
	AsS	Tm	T _г ,K	T _{кр} .	T _{пл} .			
1	100	0	435	490	590	118	360	стекло
2	99	1	440	495	585	120	355	стекло
3	97	3	448	500	480	125	358	стекло
4	95	5	450	510	585	133	365	стекло
5	93	7	455	518	595	135	350	стекло

Таблица 2 Некоторые физико-химические свойства стекол разрезаAs₂S₃-Tm (скор.охл. v= 7-10 град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты нагревания, T,K			Плотность d, г/см ³	Результаты МСА
	As ₂ S ₃	Tm	T _г ,K	T _{кр} .	T _{пл} .		
1	100	0	430	-	580	3,75	Одна мутная фаза
2	99	1	436	470	575	3,81	Одна мутная фаза
3	97	3	450	475	568	3,85	Одна мутная фаза
4	93	7	465	485	545	3,94	Одна мутная фаза
5	90	10	468	497	535	3,98	Одна мутная фаза

Таблица 3 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза AsS-Tm
(скор.охл. $v=450$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			Плотность d , г/см ³	Микро твердость H_u , кг/мм ²
	AsS	TmS	T_g , K	Ткр.	Тпл.		
1	100	0	453	545	594	3,31	110
2	99	1	455	540	590	3,33	1150
3	97	3	458	553	565	3,36	1180
4	95	5	465	560	570	3,40	1185
5	93	7	467	565	575	3,43	1195
6	90	10	471	567	578	3,47	1205
7	88	12	477	570	580	3,53	Ст.кр.

После установления границы области стеклообразования на основе AsS изучали физико-химические свойства стекол $\text{As}_2\text{S}_3\text{-Tm}$ (таблицы 4,5,6). Стекла системы $\text{As}_2\text{S}_3\text{-Tm}$ после синтеза получены компактном виде рубинового цвета.

Таблица 4 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза $\text{As}_2\text{S}_3\text{-Tm}$
(скор.охл. $v=1-2$ град/мин)

№	Состав сплавов		T_g , K	Ткр.	Тпл.	H_u кг/мм ²	Плот- ность d , г/см ³	Результаты МСА
	As_2S_3	Tm						
1	100	0	443	510	595	118	3,58	Одна мутная фаза
2	1	99	445	515	580	121	3,63	Одна мутная фаза
3	3	97	457	520	575	125	3,65	Одна мутная фаза
4	5	95	460	525	565	128	3,73	Одна мутная фаза
5	7	93	467	530	560	120	3,77	Одна мутная фаза
6	10	90	470	535	575	115	3,90	Стек.крист.

Таблица 5 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза $\text{As}_2\text{S}_3\text{-Tm}$
(скор.охл. $v=7-10$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			H_u кг/мм ²	Плот- ность d , г/см ³	Результаты МСА
	As_2S_3	Tm	T_g , K	Ткр.	Тпл.			
1	100	0	445	515	590	120	4,05	одна мутная фаза
2	99	1	450	520	580	125	4,10	одна мутная фаза
3	97	3	455	525	575	128	4,15	одна мутная фаза
4	95	5	463	530	565	130	4,20	одна мутная фаза
5	93	7	470	535	560	135	4,25	одна мутная фаза
6	90	10	475	545	555	130	4,35	одна мутная фаза
7	88	12	477	548	565	125	4,38	одна мутная фаза
8	85	15	480	551	570	120	4,43	одна мутная фаза
9	80	20	485	555	575	116	4,48	стек.крист.

Таблица 6 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза $\text{As}_2\text{S}_3\text{-Tm}$
(скор.охл. $v=450$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			H_u кг/мм ²	Плотность d , г/см ³	Результаты МСА
	As_2S_3	Tm	T_g , K	Ткр.	Тпл.			
1	100	0	440	470	585	118	3,75	одна мутная фаза
2	97	3	448	475	560	125	3,79	одна мутная фаза
3	95	5	455	482	550	128	3,81	одна мутная фаза
4	93	7	458	487	555	132	3,85	одна мутная фаза
5	90	10	465	490	568	137	3,90	одна мутная фаза
6	85	15	475	495	585	140	3,95	одна мутная фаза
7	80	20	485	510	597	125	4,05	одна мутная фаза
8	75	25	490	515	505	105	4,13	стек.крист.

Разрез $\text{As}_2\text{S}_3\text{-TmS}$. Сплавы разреза синтезированы по разработанному режиму, подобно сплавам системы $\text{As}_2\text{S}_3\text{-Tm}$. Методом физико-химического анализа исследованы сплавы системы, результаты которых приводятся в таблицах 7,8,

Таблица 7 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза As_2S_3 -TmS (скор.охл. $v=7-10$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			H_{μ} кг/мм ²	Плотность d , г/см ³	Результаты МСА
	As_2S_3	TmS	T_g, K	$T_{кр.}$	$T_{пл.}$			
1	100	0	440	470	580	118	3,75	одна мутная фаза
2	97	3	445	478	550	125	3,79	одна мутная фаза
3	95	5	448	480	595	130	3,81	одна мутная фаза
4	93	7	453	485	555	135	3,85	одна мутная фаза
5	90	10	455-465	475-495	525-580	140-145	3,90-3,95	одна мутная фаза
6	85	15	475	495	565	135	4,01	одна мутная фаза
7	80	20	480	510	590	125	4,20	стек.крист.

После определения области стеклообразования по разрезу As_2S_3 - TmS были исследованы физико-химические свойства сплавов с помощью ДТА, РФА, МСА, определение микротвердости и

плотности до и после отжига. По разрезу As_2S_3 -TmS область стеклообразования при скорости охлаждения 410 град/мин составляет 20мол% TmS.

Таблица 8 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза As_2S_3 - TmS (скор.охл. $v=450$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			H_{μ} кг/мм ²	Плотность d , г/см ³	Результаты МСА
	As_2S_3	TmS	T_g, K	$T_{кр.}$	$T_{пл.}$			
1	100	0	440	470	585	118	3,75	одна мутная фаза
2	97	3	448	475	560	125	3,79	одна мутная фаза
3	95	5	455	482	550	128	3,81	одна мутная фаза
4	93	7	458	487	555	132	3,85	одна мутная фаза
5	90	10	465	490	568	137	3,90	одна мутная фаза
6	85	15	475	495	585	140	3,95	одна мутная фаза
7	80	20	485	510	597	125	4,05	одна мутная фаза
8	75	25	490	515	505	105	4,13	стек.

Разрез As_2Se_3 -Tm. Сплавы разреза были синтезированы. Прямым ампульным методом при температуре 750⁰C и выдерживали при этой температуре 5 часов. Затем температуру печи поднимали до 1000⁰C, сплавы состава 0-10 мол % Tm охлаждали из этой температуры со скоростью 7-10 град/мин и 420 град/мин, а другие партии сплавов охлаждали

со скоростью 1-2 град/мин. После синтеза при указанных скоростях охлаждения, сплавы получились в черном компактном виде. При разломе сплавы по внешности имели раковистый излом. Это примета указывает, что они являются стеклами. Составы физико-химические свойства стеклообразных сплавов полученных в различных режимах охлаждения приведены в таблицах 9, 10, 11.

Таблица 9 Составы и некоторые физико-химические свойства стекол системы As_2Se_3 -Tm (скор. охл. $v=1-2$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			Плотность, г/м ³ 10 ³	Микротвердость H_{μ} , кг/мм ²
	As_2Se_3	Tm	T_g, K	$T_{кр.}$	$T_{пл.}$		
1	100	0	355	-	555	5,25	118
2	99	1	360	430	558	5,25	125
3	97	3	370	440	565	5,30	128
4	95	5	375	455	570	5,35	135
5	93	7	375	460	570	5,35	135
6	90	10	390	470	575	5,30	138

Таблица 10 Составы и некоторые физико-химические свойства разреза $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-Tm}$
(скор. охл. $v = 7\text{-}10$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			Плотность, $\text{г/м}^3 \cdot 10^3$	Микро твердость H_μ , кг/мм^2	Результаты МСА
	As_2Se_3	Tm	T_g , K	$T_{\text{кр.}}$	$T_{\text{пл.}}$			
1	100	0	450	-	650	4,58	130	стекло
2	99	1	456	520	646	4,60	134	стекло
3	97	3	460	510	648	4,65	1137	стекло
4	95	5	465	500	635	4,80	128	стекло
5	90	10	475	505	630	4,85	125	стекло
6	85	15	483	510	620	4,95	118	стекло

Таблица 11 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-Tm}$
(скор. охл. $v = 450$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			Плотность, $\text{г/м}^3 \cdot 10^3$	Микро твер- дость H_μ , кг/мм^2	Результаты МСА
	As_2Se_3	Tm	T_g , K	$T_{\text{кр.}}$	$T_{\text{пл.}}$			
1	100	0	450	-	650	4,45	130	Стек.
2	99	1	460	510	640	4,50	132	Стек.
3	97	3	470	500	635	4,52	133	Стек.
4	95	5	480	495	625	4,65	144	Стек.
5	90	10	500	525	635	4,67	147	Стек.
6	85	15	520	535	515	4,79	155	Стек.
7	80	20	530	545	510	4,83	170	Стек.

Разрез $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-TmSe}$ стекла системы получены в трех режимах охлаждения которые, были описаны предыдущих система ($v = 1\text{-}2$ град/мин, $7\text{-}10$

град/мин и 450 град/мин) при скорости охлаждения ($v = 1\text{-}2$ град/мин) область стеклообразования доходит до 7 мол % TmSe. Некоторые физико-химические свойства приведены в таблицах 12, 13, 14

Таблица 12 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-TmSe}$ (скор. охл. $v = 1\text{-}2$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			Плотность, $\text{г/м}^3 \cdot 10^3$	Микро твер- дость H_μ , кг/мм^2	Результаты МСА
	As_2Se_3	Tm	T_g , K	$T_{\text{кр.}}$	$T_{\text{пл.}}$			
1	100	0	450	-	650	4,58	130	Стек. крист
2	99	1	457	507	645	4,65	135	Стек. крист
3	97	3	465	510	645	4,70	138	Стек. крист
4	95	5	475	515	630	4,75	140	Стек. крист
5	93	7	490	520	590	4,80	149	Стек. крист
6	90	10	510	530	550	4,88	155	Стек. крист

Таблица 13 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза $\text{As}_2\text{Se}_3\text{-TmSe}$ (скор. охл. $v = 7\text{-}10$ град/мин.)

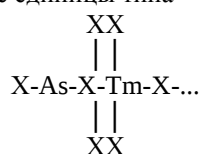
№	Состав сплавов		Термические эффекты			Плот- ность, $\text{г/м}^3 \cdot 10^3$	Микро твердость H_μ , кг/мм^2	Результаты МСА
	As_2Se_3	Tm	T_g , K	$T_{\text{кр.}}$	$T_{\text{пл.}}$			
1	100	0	450	-	650	4,58	130	Стек.
2	99	1	456	520	645	4,61	130	Стек.
3	97	3	465	515	640	4,70	135	Стек.
4	95	5	476	500	635	4,75	140	Стек.
5	90	10	480	510	630	4,83	148	Стек.
6	87	12	485	518	615	4,85	155	Стек.
7	85	15	493	500	610	4,95	160	Стек.

Таблица 14 Некоторые физико-химические свойства стекол разреза As_2Se_3-TmSe (скор.охл. $v=450$ град/мин)

№	Состав сплавов		Термические эффекты			Плотность, $г/м^3 \cdot 10^3$	Микро твердость H_v , $кг/мм^2$	Результаты МСА
	As_2Se_3	Tm	T_g, K	$T_{кр.}$	$T_{пл.}$			
1	100	0	450	-	650	4,50	135	Стек.
2	99	1	455	480	645	4,60	138	Стек.
3	97	3	465	483	640	4,65	132	Стек.
4	95	5	475	490	625	4,70	142	Стек.
5	90	10	482	495	620	4,85	143	Стек.
6	85	15	490	510	590	5,10	155	Стек.
7	80	20	515	520	585	5,25	157	Стек.

Выводы

По результатам исследования макроскопических свойств стекол было установлено, что с увеличением скорости охлаждения в сульфидных и селенидных системах область стеклообразования увеличивается с ростом концентрации тулия и его халькогенидов в состав стекол значения макроскопических свойств как T_g (температура стеклообразования), H_v (микротвёрдость) а также d (плотность) увеличивается. Эти факты дает возможность предполагать, что в стеклах образуется новые структурные единицы типа



где X-S, Se т.е. в стеклах реализуются образования новых тетраэдрических единиц $TmAsX$ 8/2.

Список литературы

1. Виноградова Г.З. Стеклообразование и фазовые равновесия в халькогенидных системах. Двойные и тройные системы М.: Наука, 1984, 176 с.

2. Борисова З.У. Халькогенидные полупроводниковые стекла. - Л.: ЛГУ, 1983. - 263 с.

3. Ильясы Т.М., док. дис. 1991, 404 с.

4. Ильясы Т.М., Худиева А.Г., Алиев И.И. «Стеклообразование и свойства стекол на основе As_2Se_3 » Chemical senses, Oxford University Press 2016, p.968

5. Ильясы Т.М., Садыгов Ф.М., Исмаилов З.И., Насибова Л.Э. «Халькогенидные стекло», патент AZN I20140079.

6. Худиева А.Г., Ильясы Т.М., Исмаилов З.И., Алиев И.И. «Исследование тройной системы Nd-As-S по различным разрезам» Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, Москва 2016 «Академия естествознания» с.902-905

7. G. Lucovsky and F.L. Galeenev. Infrared studies of Amorphous semiconductors Structure and properties of Non-crystalline semiconductors.

8. D. Engeman and R. Fisher, Proc. Sth. Intern. Conf. on Amorphous and liquid Semic. Garamiseh-Partenkirchen 1973 p.947

9. B.T. Kolomiets, T.N. Mamontova, A.A. Babayev. Non cpyst. Solids 4, 289, 1972

Pestova N. Yu.

PhD in chemistry, associate Professor of biology and chemistry
Ulyanovsk state pedagogical University

Пестова Наталья Юрьевна

кандидат химических наук, доцент кафедры биологии и химии
Ульяновский государственный педагогический университет

Oparin S. N.

PhD in biology, associate Professor of biology and chemistry
Ulyanovsk state pedagogical University

Опарина Светлана Николаевна

кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и химии
Ульяновский государственный педагогический университет

CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION of VITAMIN COMPOSITION of milk THISTLE (SILYBUM MARIANUM L.)

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИННОГО СОСТАВА РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ (SILYBUM MARIANUM L.)

Summary: Chromatographic methods are widely used to study organic and inorganic mixtures. This method simultaneously divides the sample into separate components and quantifies each of them. As a result of researches the qualitative and quantitative composition of water - and fat-soluble vitamins in biologically active additive (BAA) of Thistle was determined.

Key words: biologically active additive, vitamins, paper chromatography, milk Thistle, solvent.

Аннотация: Для изучения органических и неорганических смесей широко используются хроматографические методы. В этом методе одновременно происходит разделение пробы на отдельные компоненты и количественное определение каждого из них. В результате исследований был определен качественный и количественный состав водо- и жирорастворимых витаминов в биологически активной добавке (БАД) расторопши пятнистой.

Ключевые слова: биологически активная добавка, витамины, бумажная хроматография, расторопша, растворитель.

Постановка а проблемы

Витамины – это биологически активные органические соединения, необходимые для протекания обменных процессов в организме. Биохимическая роль витаминов состоит в том, что они являются коферментами или их составной частью. Большинство витаминов не синтезируется в организме человека и поступает с пищей. При недостаточном содержании витаминов в пище развивается гиповитаминоз или авитаминоз. Появление на фармацевтическом рынке многокомпонентных витаминных препаратов ставит задачу определения их состава и содержания различных витаминов, количество которых может сильно варьировать. Определение витаминов проводят различными методами. Наиболее известны из них титриметрические, колориметрические, флуориметрические. Данные методики являются, как правило, трудоемкими, требуют больших затрат времени и реактивов.

Такие понятия как "биологически активные добавки к пище", "нутрицевтики", "парафармацевтики" вошли и в нашу повседневную жизнь, и в современную медицину сравнительно недавно [1]. В то же время, эмпирический, культовый, интуитивный поиск и применение с лечебно-профилактическими целями различных биологически активных природных компонентов растительного, животного и минерального происхождения известны с древнейших времен. В последние десятилетия количество экспериментальных и клинических исследований в области питания настолько стремительно растет, что многие специалисты говорят буквально о формировании новой, пограничной между наукой о питании и фармакологией области знаний – фармаконутрициологии [2].

Сейчас уже все знают, и никто не сомневается, что здоровье человечества ухудшается с каждым днем. На это есть ряд весьма существенных причин [3]. Это ухудшающаяся с каждым днем экологическая обстановка, неправильное питание, постоянная нехватка нашему организму необходимых для его существования микро и макроэлементов (кальция, селена, йода, цинка, магния и др.), дефицит витаминов (витамины подгруппы В, ретинола (А) и бета-каротина, токоферола (Е), витамина С, D и др.), малоподвижный образ жизни.

Анализ последних исследований и публикаций

Известны способы идентификации, разделения и количественного определения ЖРВ в субстанциях одно- и многокомпонентных лекарственных форм, премиксах, биологически активных добавках. Недостатком имеющихся методик является

нехватка квалифицированных кадров, дорогостоящего оборудования, реактивов и материалов.

Многие ведущие отечественные и зарубежные нутриционисты считают, что наиболее быстрым, экономически приемлемым и научно обоснованным путем решения обсуждаемой проблемы (в том числе и для экономически развитых стран) является широкое применение в повседневной практике питания биологически активных добавок к пище. В условиях экономической нестабильности структура питания населения претерпевает существенные изменения в сторону усугубления дисбаланса основных компонентов рациона.

Систематические эпидемиологические исследования, проводимые Институтом питания РАМН в различных регионах России в последние несколько лет, свидетельствуют о том, что витаминный статус населения России (по результатам изучения фактического питания более 100 тысяч человек – обобщенные данные 2005 - 2015 гг.) составляет: 70-100% - дефицит аскорбиновой кислоты (витамин С), 40-80% - дефицит витаминов В₁, В₂, В₆ и фолиевой кислоты, 40-60% - дефицит бета-каротина [4, 5].

Выделение нерешенных ранее частей общей проблемы

В противоположность готовым лекарственным формам, которые содержат относительно хорошо изученные наполнители, биологические пробы содержат целый ряд неизвестных белков, солей и т.п., которые могут серьезно препятствовать правильному определению анализируемых компонентов. В последние десятилетия для изучения органических и неорганических смесей широко используются хроматографические методы. Однако, низкие концентрации анализируемых компонентов создают дополнительные затруднения [4, 5].

Сорбенты с химически связанными слоями плохо смачиваются некоторыми растворителями, что препятствует проникновению пробы в слой. Это проявляется при работе с обращено-фазовыми слоями и пробами, растворенными в смесях органических растворителей с водой. В этом случае в качестве растворителя при нанесении пробы и для сведения к минимуму размытия пятна, а также при повторном нанесении малых объемов пробы на слой сорбента приходится использовать ацетон.

В случае силикагеля вследствие того, что он смачивается почти всеми растворителями, для выбора растворителя первостепенное значение имеет то, насколько сильно он размывает пятно пробы при нанесении.

Цель статьи

Целью нашей работы была разработка экспрессного метода определения витаминов в комплексном поливитаминном препарате. При исследовании биодобавки расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L.) необходимо решить ряд сложных задач по подбору условий разделения, подготовки пробы, которые влияют на правильность и производительность анализа. Первой и самой главной целью является достижение желаемого разделения; вторая цель – оптимизация коэффициента разделения; третья – сведение к минимуму цены и трудностей работы.

Изложение основного материала

В настоящее время тонкослойная хроматография занимает одно из ведущих мест в качественном и полуколичественном анализе фармацевтических объектов. Классическая, наиболее простая и широко используемая методика тонкослойной хроматографии включает проведение следующих основных операций:

- нанесение анализируемой пробы на слой сорбента;
- разделение компонентов пробы на отдельные зоны в потоке подвижной фазы;
- обнаружение зон на слое сорбента (часто с помощью реагента, образующего с разделенными веществами окрашенные соединения);
- количественная оценка полученного разделения.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) – распространенный метод хроматографического анализа небольших количеств веществ самой разнообразной природы. К достоинствам метода следует отнести простоту, наглядность и быстроту.

В ТСХ разделение компонентов осуществляется в тонком слое сорбента, нанесенного на твердую плоскую подложку. Пластины для ТСХ можно изготавливать самостоятельно, либо использовать пластины заводского изготовления, имеющие достаточно широкий ассортимент как по типу сорбента и размерам его зерен, так и по материалу подложки (стекло, алюминиевая фольга или полимерная пленка). Для закрепления сорбента применяют гипс, крахмал, силикагель и др. вещества, которые способны удерживать зерна сорбента на подложке. Слой сорбента должен быть равномерным по толщине в любом месте хроматографической пластинки [7].

В основе разделения веществ методом ТСХ лежит различие в степени сорбции-десорбции разделяемых компонентов на неподвижной фазе (сорбенте). Адсорбция компонентов осуществляется за счет «Ван-дер-ваальсовых» сил (физическая сорбция) или химического взаимодействия адсорбента и адсорбата (хемосорбция, ионный обмен). Разделение веществ в ТСХ может осуществляться и по распределительному механизму, когда подвижная и неподвижная фазы – несмешивающиеся друг с другом жидкости. Различия в коэффициентах распределения компонентов между фазами приводит к разделению веществ.

Качественной характеристикой вещества является величина R_f , которая равна отношению расстояния от стартовой линии до центра зоны вещества к расстоянию от стартовой линии до линии фронта. Значение R_f – величина постоянная для данного соединения в данной системе. Она зависит от ряда условий: способа элюирования, качества и активности сорбента, толщины слоя, качества растворителей, количества нанесенного вещества, длины пробега растворителей, положения стартовой линии – и почти не зависит от температуры. По этой величине проводят идентификацию компонентов в смеси.

Популярность хроматографического анализа объясняется тем, что в этом методе одновременно происходит разделение пробы на отдельные компоненты и количественное определение каждого из них. В большинстве случаев лучшие растворители для приготовления смесей, используемых в качестве подвижной фазы в хроматографии, должны иметь определенные свойства. Растворитель должен смачивать слой сорбента и обладать слабой элюирующей силой для данной пробы при анализе на выбранном сорбенте [6]. Наиболее распространенным сорбентом является силикагель – гидратированная кремневая кислота, образующаяся при действии минеральных кислот на силикат натрия с последующей сушкой полученного золя. После размалывания золя используют фракцию определенной зернистости (обычно 5–20 мкм). Силикагель является полярным сорбентом, у которого в качестве активных центров выступают ОН-группы. Он легко сорбирует на поверхности воду и образует водородные связи [8].

Основываясь на результатах эксперимента можно сделать вывод о том, что оптимальное разделение смеси витаминов БАД осуществляется при использовании пластинок марки "Sorbfil" и обычной хроматографической бумаги. Силикагель смачивается почти любой возможной подвижной фазой и инертен по отношению к большинству соединений. Наиболее важно, что силикагель может быть использован для разделения большого многообразия химических соединений, а его хроматографические свойства в общем предсказуемы и воспроизводимы. Для расчета значений R_f и обнаружения витаминов пользовались стандартными методиками [7]. Хроматографирование проводят методом восходящей хроматографии в насыщенной камере, время насыщения камеры 45 мин при 20°C. В качестве ПФ применяют смесь растворителей. Время разделения составляет 45 мин, фронт элюента 8.0 см. В качестве неподвижной фазы используются пластины марки "Sorbfil", промытые непосредственно перед анализом смесью хлороформ – этанол (1:1), высушенные при 20°C в течение 15 минут и активированные при 110°C в течение 30 мин.

Исследование показало, что наиболее полное и надежное разделение водо- и жирорастворимых витаминов БАД из расторопши пятнистой при использовании хроматографической бумаги и пластин марки "Sorbfil" осуществляется на фоне смесей растворителей, указанных в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Значение Rf водорастворимых витаминов

Подвижная фаза	Объемное соотношение	Коэффициент Rf
Бутанол / уксусная кислота / вода	5 : 5 : 4	2,4 - 4,8
	4 : 1 : 5	5,7 - 7,3
Ацетон / бутанол / бензол	1 : 1 : 10	3,7
Уксусная кислота / ацетон / бутанол	1 : 1 : 4	6,3 - 7

Таблица 2. Значение Rf водорастворимых витаминов

Подвижная фаза	Объемное соотношение	Коэффициент Rf
Бензол / этилацетат	1 : 1	7,3
Ацетон / бутанол / бензол	1 : 1 : 10	6,0

$$Rf = h / h_1$$

h - расстояние пройденное образцом

h₁ – расстояние пройденное растворителем

При использовании хроматографической бумаги и "Sorbfil", пропитанных льняным маслом в 10%-ном растворе толуола, разделение смеси не наблюдалось (табл. 1, 2). Для определения местоположения компонентов и идентификации конкретных соединений в ТСХ используется также проявление хроматограмм (обработка серной кислотой, парами иода и т. п.). Детекцию и идентификацию хроматографических «откликов» на поверхности неподвижного носителя производили следующие методами:

- Витамин В₁ (тиамин) обнаруживали либо по его фиолетовой флуоресценции в УФ-свете, либо после опрыскивания хроматограммы свежеприготовленным раствором желтой кровяной соли K₄(Fe(CN)₆);
- Витамин В₂ (рибофлавин) идентифицировали при дневном свете по желтому окрашиванию и по зеленому свечению в УФ-свете;
- Витамин В₅ (никотиновая кислота) – по синевато-белой флуоресценции в ультрафиолетовом свете;
- Витамин В₆ (пиридоксин) обнаруживали по белой флуоресценции в ультрафиолетовом свете;
- Витамин В₁₂ (цианкобаламин) идентифицировали при дневном свете по красному окрашиванию, в УФ по темным пятнам на ярком фоне, а также по фиолетовому окрашиванию после опрыскивания раствором иодида калия;
- Витамин Е (токоферол) обнаруживали по темным пятнам на флуоресцирующем фоне при обработке раствором хлорида железа (III);
- Витамин А (ретинол) обнаруживали в ультрафиолетовом свете, при этом пятна витамина А были темными на светлом флуоресцирующем фоне (флуоресцирует золотисто-коричневым цветом);
- Витамин Д (кальциферол) обнаруживали хлоридом сурьмы (III) или хлоридом сурьмы (V).

Необходимо помнить, что значения Rf являются качественной характеристикой компонентов для строго определенных условий хроматографирования. Поэтому при проведении исследований веществ с предполагаемым составом применяют метод хроматографирования со свидетелем - известным веществом.

Достоинство ТСХ состоит и в том, что после хроматографирования каждое разделенное вещество можно в дальнейшем исследовать другими методами. Для этого необходимо снять соответствующий компоненту слой сорбента, элюировать из него вещество и исследовать его с помощью ИК- и УФ-спектроскопии, ЯМР и т. д. Метод ТСХ можно использовать и как препаративный, т.е. для наработки

небольшого количества вещества, в том числе и для свидетеля.

Один из недостатков метода ТСХ - использование в составе подвижных фаз токсичных органических растворителей (метанол, ацетонитрил, четыреххлористый углерод и др.). В качестве элюентов можно применять водные растворы поверхностно-активных веществ (ПАВ), не обладающих токсичными свойствами.

Выводы и предложения

В результате исследований было установлено, что биологически активная добавка из расторопши пятнистой (*Silybum marianum* L.) содержит следующие водорастворимые витамины группы В: В₁ (тиамин), В₂ (рибофлавин), В₅ (никотиновая кислота), В₆ (пиридоксин). С ростом содержания органического компонента в подвижной фазе увеличивается значение фактора удерживания витамина В₁₂ (цианкобаламин) (табл. 1). Таким образом, в нормально-фазовом режиме ТСХ возможно осуществить разделение водорастворимых витаминов группы В.

При определении жирорастворимых витаминов варьировали состав элюента, используя различные органические растворители. В таблице 2 представлены факторы удерживания витаминов А, Е и Д в зависимости от состава подвижной фазы. Из жирорастворимых витаминов БАД содержит витамин А (ретинол), Е (токоферол), Д (кальциферол).

Список литературы:

1. Беликов В.Г. Синтетические и природные лекарственные средства. – М.: Высшая школа, 1993.
2. Ботанико-фармакогностический словарь. / Под ред. К.Ф. Блиновой, Г.П. Яковлева. – М.: Высшая школа, 1990.
3. Справочник биохимика. / Пер. с англ. Досон Р., Эллиот Д. – М.: Мир, 1991.
4. Опарина С.Н., Пестова Н.Ю. Гетерокарпия у *Galinsoga parviflora* Cav. (Asteraceae) // XX Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы науки XXI века. М., «Cognitio», 2017. С.11-17.
5. Опарина С.Н. Гетерокарпия у *Galinsoga quadriradiata* L. (Asteraceae) // Естественно-гуманитарные исследования, 2016. № 6. С. 25-27.
6. Пестова Н.Ю. Физико-химические методы исследования. // Учебно-методические рекомендации. - Ульяновск: ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», 2017 – 21 стр.
7. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. Т. 1,2. – М.: Мир, 1980.

#3 (31), 2018 część 2
Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe
(Warszawa, Polska)
Czasopismo jest zarejestrowane i publikowane w Polsce. W czasopiśmie publikowane są artykuły ze wszystkich dziedzin naukowych. Czasopismo publikowane jest w języku polskim, angielskim, niemieckim i rosyjskim.

Artykuły przyjmowane są do dnia 30 każdego miesiąca.

Częstotliwość: 12 wydań rocznie.

Format - A4, kolorowy druk

Wszystkie artykuły są recenzowane

Każdy autor otrzymuje jeden bezpłatny egzemplarz czasopisma.

Bezpłatny dostęp do wersji elektronicznej czasopisma.

Zespół redakcyjny

Redaktor naczelny - Adam Barczuk

Mikołaj Wiśniewski

Szymon Andrzejewski

Dominik Makowski

Paweł Lewandowski

Rada naukowa

Adam Nowicki (Uniwersytet Warszawski)

Michał Adamczyk (Instytut Stosunków Międzynarodowych)

Peter Cohan (Princeton University)

Mateusz Jabłoński (Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)

Piotr Michalak (Uniwersytet Warszawski)

Jerzy Czarnecki (Uniwersytet Jagielloński)

Kolub Frennen (University of Tübingen)

Bartosz Wysocki (Instytut Stosunków Międzynarodowych)

Patrick O'Connell (Paris IV Sorbonne)

Maciej Kaczmarczyk (Uniwersytet Warszawski)

Dawid Kowalik (Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)

Peter Clarkwood (University College London)

#3 (31), 2018 part 2
East European Scientific Journal
(Warsaw, Poland)
The journal is registered and published in Poland. The journal is registered and published in Poland. Articles in all spheres of sciences are published in the journal. Journal is published in **English, German, Polish and Russian.**

Articles are accepted till the 30th day of each month.

Periodicity: 12 issues per year.

Format - A4, color printing

All articles are reviewed

Each author receives one free printed copy of the journal

Free access to the electronic version of journal

Editorial

Editor in chief - Adam Barczuk

Mikołaj Wiśniewski

Szymon Andrzejewski

Dominik Makowski

Paweł Lewandowski

The scientific council

Adam Nowicki (Uniwersytet Warszawski)

Michał Adamczyk (Instytut Stosunków Międzynarodowych)

Peter Cohan (Princeton University)

Mateusz Jabłoński (Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)

Piotr Michalak (Uniwersytet Warszawski)

Jerzy Czarnecki (Uniwersytet Jagielloński)

Kolub Frennen (University of Tübingen)

Bartosz Wysocki (Instytut Stosunków Międzynarodowych)

Patrick O'Connell (Paris IV Sorbonne)

Maciej Kaczmarczyk (Uniwersytet Warszawski)

Dawid Kowalik (Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)

Peter Clarkwood (University College London)

Igor Dziedzic (Polska Akademia Nauk)
Alexander Klimek (Polska Akademia Nauk)
Alexander Rogowski (Uniwersytet Jagielloński)
Kehan Schreiner (Hebrew University)
Bartosz Mazurkiewicz (Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)
Anthony Maverick (Bar-Ilan University)
Mikołaj Żukowski (Uniwersytet Warszawski)
Mateusz Marszałek (Uniwersytet Jagielloński)
Szymon Matysiak (Polska Akademia Nauk)
Michał Niewiadomski (Instytut Stosunków Międzynarodowych)
Redaktor naczelny - Adam Barczuk

1000 kopii.

Wydrukowano w «Aleje Jerozolimskie 85/21, 02-001 Warszawa, Polska»

Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe

Aleje Jerozolimskie 85/21, 02-001 Warszawa, Polska

**E-mail: info@eesa-journal.com ,
<http://eesa-journal.com/>**

Igor Dziedzic (Polska Akademia Nauk)
Alexander Klimek (Polska Akademia Nauk)
Alexander Rogowski (Uniwersytet Jagielloński)
Kehan Schreiner (Hebrew University)
Bartosz Mazurkiewicz (Politechnika Krakowska im. Tadeusza Kościuszki)
Anthony Maverick (Bar-Ilan University)
Mikołaj Żukowski (Uniwersytet Warszawski)
Mateusz Marszałek (Uniwersytet Jagielloński)
Szymon Matysiak (Polska Akademia Nauk)
Michał Niewiadomski (Instytut Stosunków Międzynarodowych)
Editor in chief - Adam Barczuk

1000 copies.

Printed in the "Jerozolimskie 85/21, 02-001 Warsaw, Poland»

East European Scientific Journal

Jerozolimskie 85/21, 02-001 Warsaw, Poland

**E-mail: info@eesa-journal.com ,
<http://eesa-journal.com>**