

Г О Д И Ш Н И К
НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ
„СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

Медицински факултет

A N N U A L
OF SOFIA UNIVERSITY
“ST. KLIMENT OHRIDSKI”

Faculty of Medicine

Том/Volume 2

УНИВЕРСИТЕТСКО ИЗДАТЕЛСТВО „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

ST. KLIMENT OHRIDSKI UNIVERSITY PRESS

СОФИЯ • 2017 • SOFIA

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

ПРЕДСЕДАТЕЛ

Проф. д-р Любомир Спасов, дм

ЧЛЕНОВЕ

Проф. д-р Димитър Терзииванов, дм, дмн

Проф. д-р Върбан Ганев, дм, дмн

Проф. д-р Цветанка Маринова, дм, дмн

Доц. д-р Веселин Кожухаров, дм

Доц. д-р Ася Станчева, дм

Гл. ас. д-р Станислав Филипов

Главен редактор Доц. д-р Иванка Атанасова, дм

Адрес за контакт: Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“
Университетска болница „Лозенец“
София 1407, ул. Козяк 1
тел.: 9607 346; email: ivanka.atanasova@mail.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

ОБЗОРИ

<i>Дида Казакова, Татяна Вълва-Илиева</i> Невропротекцията и нейното място при лечението на глаукома	9
<i>Елена Джамбазова</i> Преглед на анатомията и физиологията на болката	24
<i>Искра Такева, Любомир Спасов</i> Необходимостта от рехабилитационна намеса при чернодробните трансплантации и възможностите които предлага	43
<i>Галина Железова</i> Пневмококви имунизации при пациенти с имунен дефицит.	60
<i>Галина Железова</i> Тропическа треска денга – съвременна епидемиология и ваксинапрофилактика . . .	72
<i>Борил Петров, Красимир Янев</i> Исторически преглед на хирургичното лечение на рака на простатната жлеза . . .	81

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

<i>Борил Петров</i> Алгоритъм за диагноза на простатен карцином в университетска болница „Лозенец“	89
<i>Петко Кабакчиев, Димитрина Тодорова</i> Септопластика – основна хирургична техника при оперативното лечение на патологичните процеси на носа и синусите	95
<i>Димитрина Тодорова, Петко Кабакчиев</i> Акустична ринометрия при затруднено носно дишане	117
<i>Румяна Бакалова, Десислава Лазарова, Геноева Златева, Живко Желев, Любомир Спасов, Ичио Аоки.</i> Визуализация и свръхпродукция на супероксидни радикали в живи клетки и хидроксили усилващи магнитно-резонансни изображения – нов поглед в молекулярните механизми на функционалния MRI	123
<i>Ваня Митова, Мирослав Зашев, Радосвет Горнев</i> Гастроинтестинални стромални тумори на ректум	135
<i>Цветанка Маринова, Любомир Спасов, Майя Маркова</i> Тимусните многоклетъчни лимфо-стромални комплекси като места за селекция на тимоцитите: факт или артефакт.	144

<i>Мая Бангъозова, Албена Йорданова, Ася Цанова, Вишня Стоянова, Емилия Стоименова, Йорданка Ямакова, Росен Петков, Красимира Иванова, Емилия Христова, Здравко Лалчев</i>	
Изменение в параметрите на повърхностното напрежение на клинични проби в норма и патология	150
<i>Явор Григоров, Мариан Кънчев, Антонина Гегова, Росен Спасов, Светла Георгиева</i>	
Бедрен липосарком – органсъхраняваща операция	162
<i>Венета Димитрова, Джем Фарънджъ, Иванка Атанасова, Любомир Спасов, Димитър Терзииванов</i>	
Мониториране на кръвните нива на циклоспорин и серумния креатинин при чернодробно трансплантирани деца и възрастни	171
<i>Кристина Божинова, Иванка Атанасова, Димитър Терзииванов.</i>	
Приложение на популационния фармакокинетичен анализ в експерименталната фармакология	181
<i>Галина Железова, Гриша Матеев, Благвеста Пенчева, Станислава Златева, Росен Михайлов, Людмила Иванова, Снежина Василева</i>	
Серумни маркери на възпаление при пациенти с псориазис.	194
<i>Людмила Б. Иванова, Ралица Б. Иванова</i>	
Референтни стойности за прием на йод според възрастта и физиологичното състояние	201
<i>Чавдар Катански</i>	
Концептуална визия за качество и ефективност на обучението на медицински сестри	214
<i>Ива Гашарова, Мария Радкова, Жанет Гергелчева, Гергана Лазарова, Теменуга Донова</i>	
Клиничен случай на хемохроматоза с изява на остра левостранна застойна сърдечна недостатъчност и полиорганно засягане.	242
<i>Карина Благоева</i>	
Анкетно проучване относно стила на мениджмънт и лидерство в управление на болница	249

CONTENTS

REVIEWS

<i>Dida Kazakova, Tatyana Valova-Ilieva</i> Neuroprotection and its Place in Glaucoma Treatment	9
<i>Elena Dzhambazova</i> Overview of the anatomy and physiology of pain	24
<i>Iskra Takeva, Lubomir Spassov.</i> The need for rehabilitation intervention for people with a liver transplant and the opportunities it offers	43
<i>Galina Zhelezova.</i> Pneumococcal immunization of patients with immunodeficiency	60
<i>Galina Zhelezova.</i> Tropical dengue fever – contemporary epidemiology and vaccine prophylaxis	72
<i>Boril Petrov, Krasimir Yanev.</i> A historical overview of the surgical treatment of prostate cancer	81

ORIGINAL ARTICLES

<i>Boril Petrov</i> Diagnostic algorithm for prostate cancer at ‘Lozenetz’ University Hospital.	89
<i>Petko Kabakchiev, Dimitrina Todorova.</i> Septoplasty the main otorhinolaryngological procedures as a technique for treatment of pathological processes in the nasal cavity and sinuses	95
<i>Dimitrina Todorova, Petko Kabakchiev</i> Acoustic rhinometry in difficult nasal breathing	117
<i>Rumiana Bakalova, Dessislava Lazarova, Genoveva Zlateva, Zhivko Zhelev, Lubomir Spassov, Ichio Aoki</i> Visualization of overproduction of superoxide in living cells using nitroxide-enhanced magnetic resonance imaging – new insight on the molecular nature of the functional MRI.	123
<i>Vanya Mitova, Miroslav Zashev, Radosvet Gornev</i> Gastrointestinal stromal tumors of the rectum.	135
<i>Tsvetanka Marinova, Lyubomir Spassov, Maya Markova</i> Thymic multicellular lympho-stromal complexes as sites of thymocyte selection: fact or artifact.	144

<i>Maya Bangyozova, Albena Jordanova, Asya Tsanova, Vishnya Stoyanova, Emilia Stoimenova, Yordanka Yamakova, Rosen Petkov, Krasimira Ivanova, Emilia Christova, Zdravko Lalchev</i>	
Alteration of surface tension parameters in clinical samples in norm and pathology . . .	150
<i>Yavor Grigorov, Marian Kanchev, Antonina Gegova, Rosen Spassov, Svetla Georgieva.</i>	
Femoral liposarcoma – Limb sparing surgery	162
<i>Veneta Dimitrova, Dzhem Farandzha, Ivanka Atanasova, Lubomir Spassov, Dimiter Terziivanov</i>	
Cyclosporine and creatinine blood levels monitoring in pediatric and adult liver transplant patients	171
<i>Kristina Bozhinova, Ivanka Atanasova, Dimiter Terziivanov</i>	
Application of population pharmacokinetic analysis in experimental pharmacology . . .	181
<i>Galina Zhelezova, Grisha Mateev, Blagovesta Pencheva, Stanislava Zlateva, Rosen Michailov, Ludmila Ivanova, Snejina Vassileva</i>	
Serum markers of inflammation in patients with psoriasis	194
<i>Ludmila B. Ivanova , Ralitza B. Ivanova.</i>	
Dietary Reference Intakes of iodine by age and physiological status	201
<i>Chavdar Katansky</i>	
Conceptual vision for quality and effectiveness of the nurses training	214
<i>Iva Gasharova, Maria Radkova, Janet Gergelcheva, Gergana Lazarova, Temenuga Donova,</i>	
Onset of haemochromatosis with left ventricular failure and multisystem involvement	242
<i>Karina Blagoeva</i>	
Questioners investigations on the style and leadership in hospital management	249

ОБЗОРИ

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

NEUROPROTECTION AND ITS PLACE IN GLAUCOMA TREATMENT

DIDA KAZAKOVA, TATYANA VALOVA-ILIEVA*

Department of Ophthalmology, Sofia University “St. Kliment Ohridski”

*Medical Military Academy – Sofia

Reducing intraocular pressure (IOP) continues to be the primary strategy to treat glaucoma, in many cases it continues to be only relatively helpful. The reason for this is that increased IOP is the best known and most highly correlated with glaucomatous damage, but not the only threat leading to retinal ganglion cells (RGCs) death. The many years of research in the field of the pathogenesis of glaucoma has discovered other risk factors affecting these cells, also referred as “non – pressure dependent risk factors” such as vascular disorders, glutamate excitotoxicity, oxidative stress, protein misfolding, glial activation and dysregulation of glucosaminoglycans. They can cause retinal damage, especially obvious is this relation in patients with normal tension glaucoma, where the increased IOP is clearly not the main cause for the disease progression. These factors are connected to the IOP levels and affecting them can lead to natural regulation of the fluid in- and out flow. Therefore, an alternative treatment methods are required to manage these factors as well, targeting glaucomatous damage more effectively. These new strategies, some of which are still under investigation, can improve vascular regulation and improve the blood flow to the eye, reduce oxidative stress and excitotoxicity and prevent apoptotic death. Any treatment that protects surviving neurons and rescues the already injured ones should slow down the progression of the glaucomatous optic nerve damage. Vascular regulation can be improved locally by carbonic anhydrase inhibitors, and systemically with magnesium, omega 3 fatty acids and dark chocolate. Oxidative stress at mitochondrial level can be reduced by coenzyme Q 10. Polyphenolic flavonoids (tea, coffee, red wine, berries) and melatonin have antioxidant properties. Peroxyde production can be

* *За контакти:* Доц д-р Диди Казакова, Отделение по офталмология, УБ „Лозенец“ , МФ на СУ „Св. Климент Охридски“ email: dida_kazakova@hotmail.com

decreased by nitric oxide-2 synthase inhibition. Destruction of heat shock proteins can be reduced by antigens or vaccines. Inhibitors of metalloproteinase -9 prevent apoptosis of RGCs and avoid tissue remodeling. Future investigation of these compounds may provide new hope for both clinicians and glaucoma patients.

Key words:

Glaucoma, neuroprotection, dysregulation, IOP, oxidative stress

Дида Казакова, Татяна Вълва-Илиева. Невропротекцията и нейното място при лечението на глаукома

Намаляването на вътреочното налягане (ВОН) продължава да е основната стратегия за лечение на глаукомата, но в много случаи този метод не е достатъчно ефективен. Причината за това е, че високото ВОН е най-известният и най-силно корелиращият с глаукоматозното увреждане фактор, но не е единственият, водещ до увреда на ретинните ганглийни клетки (РГК). Дългите години на проучване в областта на патогенезата на глаукомата доведоха до идентифицирането на други рискови фактори, влияещи върху тези клетки, които действат независимо от вътреочното налягане и сами по себе си водят до увреждане на ретината. Такива фактори са съдовите заболявания, глутаматната екситотоксичност, оксидативният стрес, неправилното нагъване на протеини, активирането на ретинните глиални клетки и дисрегулация в синтеза на някои глюкозаминогликани. Тяхната роля е също толкова важна и е особено очевидна връзката им с отпадането на части от зрителното поле при пациенти, страдащи от глаукома с нормално налягане, при които увеличеното ВОН не е главната причина за развитието на заболяването. Въпреки че действат самостоятелно, тези фактори са свързани с нивата на ВОН и ако бъдат повлияни, могат да доведат до естествено регулиране на потока на вътреочната течност през трабекуларната мрежа. В този контекст са необходими алтернативни методи на лечение, които да се справят с тези фактори, за се постигне един по-добър контрол на глаукоматозните щети. Тези нови стратегии, някои от които все още са обект на изследвания, могат да подобрят съдовата регулация и притока на кръв към окото, да намалят оксидативния стрес и екситотоксичността и следователно да предотвратят апоптотичната смърт. Всяко лечение, което предпазва оцелелите неврони и регенерира вече увредените клетки, би трябвало да забави прогресията на увреждането на зрителния нерв. Съдовата регулация може да бъде подобрена на местно ниво от инхибитори на карбоанхидразата и системно с магнезий, омега 3 мастни киселини и черен шоколад. Оксидативният стрес на митохондриално ниво може да бъде намален с коензим Q 10. Полифенолните флавоноиди (чай, кафе, червено вино, плодове) и мелатонинът имат антиоксидантни свойства. Производството на пероксид може да бъде намалено чрез инхибиране на ензима азотен оксид синтаза 2. Образуването на автоимунни антитела срещу протеините на топлинния шок, необходими за тъканната протекция, може да бъде намалено чрез специфични антигени или ваксини. Инхибиторите на ензима металопротеиназа -9 предотвратяват апоптозата на ганглийните клетки и ремоделирането на тъканите. Бъдещи клинични проучвания на тези съединения могат да открият нови перспективи в борбата с това социално значимо заболяване.

Ключови думи:

Глаукома, невропротекция, дисрегулация, ВОН, оксидативен стрес

INTRODUCTION

Worldwide, glaucoma is the most common optic neuropathy, the second most typical cause of blindness and the most typical cause of definitive vision loss [35]. This disease causes progressive apoptosis of retinal ganglion cells [33]. Neural damage in glaucoma is not restricted to the retina, it also impacts nerves in the lateral geniculate nucleus and visible cortex [29]. The main therapy of glaucoma is to reduce the IOP, which decreases the amount of damage on the ganglion cells. Sometimes, this therapy seems to be efficient, at least for a couple of years after the beginning of the treatment, but the results are transitional and progression occurs in most cases. The normal IOP range varies from 7-22 mm/ Hg, however, roughly 90 % of individuals with IOPs higher than 22 mm/Hg never develop glaucoma. Moreover, some individuals with normal IOPs do develop visual problems and glaucoma [14]. Thus, understanding the cell and molecular biology of the RGCs and all of the processes that affect them, is crucial. Retinal ischemic and inflammation related illnesses such as retinal vascular occlusion or diabetes retinopathy generate hypoxic and/or oxidative stress–induced RGC death [47, 28]. Similar to these conditions, RGC degeneration in glaucoma is considered to be caused by apoptotic mechanisms activated by several stimulating elements, such as ischemia, oxidative stress, rise of the glutamate levels, protein misfolding and auto-immune factors [4, 5]. Some sufferers from glaucoma have regular IOP but inadequate blood flow, leading to degeneration of the optic nerve cells. Oxidative stress caused either by a higher level of reactive oxygen species (ROS) or mitochondrial malfunction is also suggested as a factor in glaucomatous, ischemic and genetic optic neuropathies [7, 13]. Reduced glycosaminoglycan (GAG) production or damage to the trabecular meshwork can also cause lesion of ganglion tissues [14]. Numerous researches have confirmed that extreme glutamate levels causes RGC loss in vitro and in vivo [39, 28]. There are a wide range of different agents, effective on different aspects of the various molecular pathways resulting in cell damage, many of them are described in this article. In general, using these new treatment methods, researchers aim to improve neuronal survival or reduce neuronal damage by:

- Improving ocular blood flow (OBF)
- Reducing excitotoxicity
- Decreasing oxidative stress
- Improving neuronal environment and excluding autoimmune reactions
- Restoring trabecular meshwork's integrity and efficiency

Mechanisms of RGC Damage & Targets for non-IOP lowering agents

Vascular factors in relation to glaucomatous damage – ischemia, vascular dysregulation syndrome and reperfusion injury

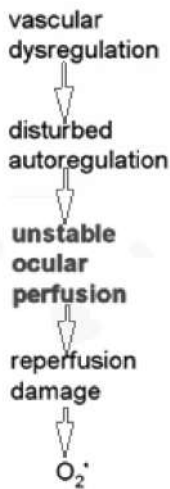


Fig. 1
Mechanism
of the reperfusion
damage [25]

In some patients, particularly those with normal tension glaucoma, an inadequate blood flow to the optic nerve may be contributing to nerve lesions and vision loss [25]. Systemic hypotension, vasospasm or even mechanical compression can all trigger abnormal OBF. Frequently discussed is the role of the genetic vascular dysregulation (also known as primary vascular dysregulation or PVD) in the pathogenesis of glaucoma. Patients with PVD have different response to a number of stimulating elements such as cold, physical or emotional stress. In such conditions they are not able to produce as much ATP-independent heat as those without PVD. This insufficiency results in cold arms and legs. In order to reduce that heat loss, blood vessels there constrict. The dysfunctional autonomic nervous system of these patients causes low blood pressure and orthostatic hypotension, night time blood pressure non-dipping and over-dipping and typical headaches. The same thing appears in eye vessels, where this dysfunction of adaptation to stimulating elements, such as light, sympathetic stimulation or hypotension leads to an unstable ocular perfusion. This instability of blood circulation results in repeated reperfusion which contributes, via oxidative stress to glaucomatous damage. The lack of oxygen and nutrients from the blood creates a condition in which the recovery of the circulation results in inflammation due to the production of toxins and free radicals which disturb the processes in the mitochondria and stimulate the astrocytes (Figure 1) [25, 26].



Fig. 2
Salvia miltiorrhiza

Antivasospastic drugs and some substances that improve systematic blood pressure and therefore, the ocular blood flow (OBF), can block this process and prevent cell injury [6].

Carbonic anhydrase inhibitors are already locally used in glaucoma treatment to reduce the IOP, but they also tend to make the OBF more steady and decrease the nocturnal dips in the ocular blood pressure.

It is not recommended to treat hypotension with vasoconstrictive drugs which may decrease OBF further. Blood pressure can be safely raised by simply increasing salt intake (1-5 g daily). Low amounts of fludrocortisone can slightly improve BP and decrease night dips improving the control of blood circulation [25].

Magnesium physiologically blocks Ca canals and has a slight effect. Omega 3 – fatty acids (omega 3-FAs) have many effects, such as modulation of intra cellular Ca⁺⁺ release and stabilize the flow. They also enhance the ATP - autonomous heat production, which is impaired in sufferers with PVD [25]. Epidemiological data has shown a low prevalence of chronic open-angle glaucoma among Eskimos on a local diet high in omega-3 fatty acids.

Salvia miltiorrhiza (Figure 2) is a commonly used herb in Chinese medicine. The microcirculation of the retinal ganglion cells appears to enhance when this botanical is injected i.v. Two experiments on rabbits discovered Salvia’s ability to protect the optic nerve from the damaging effect of increased IOP. Perfusion can also be improved with cardio exercises and sufficient intake of vitamins B6, B9, B12, and C [30].

Release of excitotoxins

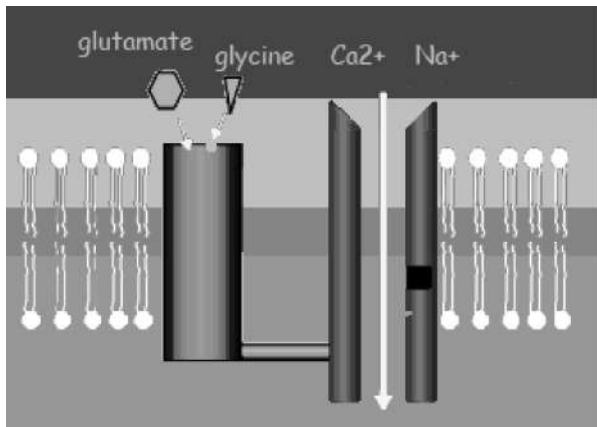


Fig. 3
The NMDA receptor. Glutamate (glycine acts as a co-agonist) binds to the receptor and causes the channel to open allowing sodium and calcium to enter into the cell. [6]

The substances, identified as excitotoxins are actually excitatory amino acids, such as glutamate, that are normally used by neurons as neurotransmitters. At high local levels, these neurotransmitters, which normally are harmless molecules, can trigger a highly toxic response in the nearby tissue [36]. The hypoxemia drastically lowers the ability to produce ATP, because of the vital sodium–potassium pump of both neurons and the glia that supports them, seizes

to function. Membranes depolarize with increased release and reduced clearance of glutamate by dying RGCs or by metabolically affected glial cells [6]. It stimulates the receptors of the cell membrane. The glutamate receptor, which plays the greatest part in excitotoxic effects, is the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor (Figure 3) [36]. When the Glutamate binds to the receptor it causes the sodium and calcium to enter the cell by opening the channel. At very high levels of glutamate, this receptor is hyper-stimulated and allows extra calcium to be released through the membrane. This increased intra cellular calcium is considered to induce a series of events such as the activation of the enzyme nitric oxide synthase (which creates free radicals from nitric oxide). Eventually, these toxic molecules create enough lesions on the cell to lead to its death. Lately, raised levels of glutamate were found in the vitreous

of glaucoma patients [10]. NMDA receptor antagonists and some calcium-channel blockers may stabilize glutamate levels and prevent such cellular impairment (some of these drugs is shown in Table 1).

Table 1. Medicines that may prevent excitotoxicity and their action

Place of action	Drug	Action
Pre-NMDA Receptor	Riluzole	Attenuates glutamate release
NMDA Receptor	Magnesium	Open-channel blocker
	Memantine	NMDA receptor antagonist
	Verapamil, Nifedipine, Diltiazem	Open-channel blocker

One of these substances, memantine, has already been proven to be efficient in preventing the excitotoxic reaction of retinal ganglion cells both in vitro and in vivo [45]. Memantine was the first medication approved for use as a neuroprotective agent in Alzheimer's dementia. Proof of its effectiveness in glaucoma occurs in animal glaucoma models, where memantine reduces the RGCs destruction, neuronal shrinkage of the central visual field and loss of visual function. Riluzole is approved as treatment of amyotrophic lateral sclerosis, again due to it's neuroprotective properties [5]. The difference between riluzole and memantine is that riluzole antagonizes excitotoxicity by inhibiting glutamate release, while memantine binds to the glutamate receptor [11].

One of the most intriguing classes of medication now being examined in neurodegenerative illnesses is the open-channel blockers. The first generation of calcium channel blockers are verapamil, nifedipine, and diltiazem. These medications prevent the access of calcium by binding to the inside of the channel, blocking the entry. Researchers found that there is a lesser amount of visual field and optic nerve contour changes in patients with low-tension glaucoma using calcium channel blockers than in controls [34]. Their effect might be mediated through direct action on calcium status or indirectly through improved optic nerve blood flow, it is still uncertain. Unfortunately, some of these drugs usually cause heart side-effects such as bradycardia and hypotension (including nocturnal) possibly contributing to ischemic stress at the optic nerve head by reducing the optic nerve head perfusion pressure [20]. The effect on patients with high systemic blood pressure is less damaging, therefore calcium channel blockers may be the drug of first choice for antihypertensive therapy in patients with systemic hypertension and low-tension glaucoma.

Oxidative Stress

Overstimulated, the NMDA receptor, as noted earlier, stimulates nitric oxide synthase (NOS), leading to nitric oxide (NO) production. NO is a neuronal messenger fundamental for proper retinal neurotransmission as well as phototransduction. Unregulated, it has the capacity to chemically react with the superoxide anion in order to form peroxynitrite (ONOO⁻), an incredibly reactive oxidant (Figure 4). Oxidative stress is the leading cause behind RGC destruction, resulting in secondary degeneration of neurons. This degeneration is triggered either by direct neurotoxic insult by means of free radical damage of cell membranes, enzymes, proteins and DNA; or indirectly by induction of glial impairment and activation of apoptotic pathways through its damaging effect on mitochondrial energy production [6]. Lessened antioxidant defensive systems are found in early stage glaucoma. The rates of sulfhydryl groups, a reflection of glutathione levels, were found to be substantially lower in the aqueous humor of individuals with glaucoma, primarily in advanced phases of the disease, in comparison to normal healthy control subjects. The erythrocyte GSH levels are also lower in glaucoma patients with severe glaucomatous damage. In line with the evidence of decreased antioxidant defense systems in glaucomatous eyes is the finding of an increased more than twice the usual level lipid peroxidation product malondialdehyde (MDA) the in the anterior chamber of patients with glaucoma [14].

Mitochondrial dysfunction as a consequence of oxidative stress is thought to contribute strongly to the pathogenesis of neurodegenerative diseases, including glaucoma. Mitochondria produce cell's energy through the electron transport chain. This energy (as ATP) and is crucial for cellular pump function, therefore - cellular integrity. Mitochondrial dysfunction initiates the intrinsic apoptotic pathway by upregulation of NF-κB (responsible for inflammation and autoimmune reactions) and activates proapoptotic genes [6].

An array of free-radical scavengers and NOS inhibitors are being looked into as possible therapeutic agents. Coenzyme Q10 (CoQ10) offers protection in neurodegenerative disorders including for example Huntington's, Parkinson's and Alzheimer's disease [48]. A variety of mechanisms of action are possible. Being a free-radical scavenger, CoQ10 helps prevent oxidative damage to important cellular structures. As CoQ10 is a vital component of the mitochondrial electron transport chain, it potentiates energy production. Additionally it inhibits the NF-κB, which is associated with cell death pathways. Also, Coenzyme Q10 minimizes the risk of cardiac side effects of timolol, proven in several clinical trials. It slowed down the emergence of negative inotropic effects, such as bradycardia, associated

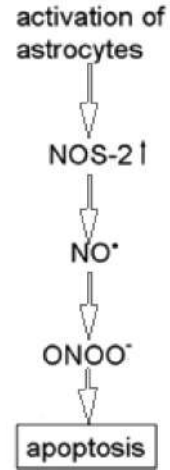


Fig. 4
Formation of free radicals [25]



Fig. 5

Ginkgo biloba Source: Google images

Ginkgo biloba (EGb 761) has been used in Chinese medicine for more than 5000 years. The extract scavenges free radicals and antagonizes platelet-activating factor, as a result it increases blood flow in the retinal artery. Ginkgo biloba boosts the survival of RGCs in experimental models of glaucoma. In a study with forty-six patients, some with major visual field disturbances, were given 160 mg/day Ginkgo extract for four weeks, then 120 mg/day. Slight benefits were observed and owing to the severity of the ocular damage at the beginning of the study, they were determined relevant [31].

One other survey suggests that Ginkgo substantially increases blood flow to the ophthalmic artery. Therefore, it may bring benefit in glaucoma patients with decreased ocular blood flow [14].

Polyphenol flavonoids represent a big group of plant-derived compounds [28]. The literature is documenting the beneficial effects of the food products rich in flavonoids – coffee, tea, berries, dark chocolate, many orange and green fruits and vegetables (Table 2) [14, 30]. Researchers studied the neuroprotective effects of three kinds of flavonoids and discovered many positive effects on hypoxic, glutamate, and oxidative stress at minimal concentrations. More than that, some flavonoids like rutin indicated inhibitory effects on both the apoptotic and necrotic pathways [28].

Both green and black tea contain polyphenols such as catechins. Green tea is completely unique – it has the highest level of polyphenols – 35% by dry weight. Coffee, along with polyphenols, possesses the molecule 3-methyl-1,2-cyclopentnedione, confirmed scavenger of peroxynitrite (ONOO⁻). Owing to their higher flavonoid compound, red wines show a stronger antioxidant features than white wines. Moreover, they decrease the production of endothelin (ET-1), which defends the eye from vasospasms [14].

with this beta blocker [14]. Vitamin E (α -tocopherol) is very important lipid-soluble antioxidant in cells. Retinal impairment was decreased in animal models obtaining vitamin E [3]. Furthermore, vitamin E could have vasoregulatory and glutamate transport activity. Melatonin is also proven to be antioxidant, and may reduce excitotoxicity via elevated retinal glutamate elimination [46]. Melatonin may also restrain the intrinsic apoptotic pathway.

Table 2. Flavonoid composition of most consumed flavonoid-rich foods Source: USDA’s Database on the Flavonoid Content of Selected Foods

Food	Major flavonoids present
Cocoa or dark chocolate Black tea Green tea Red wine	Flavan-3-ols: ex. Catechins Flavonols: ex. Quercetin, Kaempferol
Berries	Anthocyanidins: ex. Cyanidin, Delphinidin
Oranges, Grapefruits	Flavanones: ex. Hesperetin, Naringenin
Parsley	Flavones: ex. Apigenin, Luteoli

Enough mineral consumption possesses a major part in glaucoma management. It is important in order to avoid DNA damage due to oxidative causes in the trabecular meshwork. As ROS increase in the anterior chamber, the outflow resistance in the trabecular meshwork raises. Superoxide dismutase (SOD) assists to eliminate the first line of reactive oxygen species. The end product is hydrogen peroxide, another strong oxidant. Glutathione peroxidase is then necessary get rid of the hydrogen peroxide [43] (Figure 7).

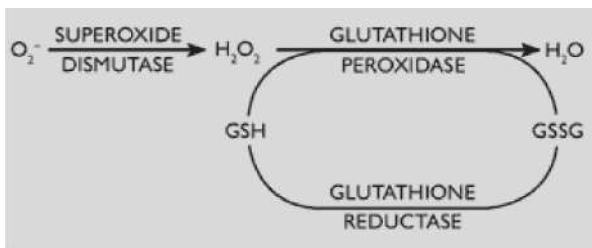


Fig. 6 Enzymes eliminating free radicals Source: Google images

The eyes overcome the first line of oxidants when enough copper, zinc, and manganese (precursors to SOD) are provided. Suitable dietary selenium is necessary for the body to produce adequate glutathione peroxidase to defuse the hydrogen peroxide of the second line of oxidants [28].

The nitric oxide synthase inhibitor aminoguanidine is a strong inhibitor of inducible NOS-2 expressed on reactive astrocytes and some microglia, but its potency in animal models of glaucoma continues to be inconclusive [2].

Glial Cell Modulation

Retinal ganglion cells are not the only cells injured in glaucoma. Astrocytes are the substantial glial cells to provide support to neuronal axons, along with interface between connective tissue and blood vessels. Inactive astrocytes are translated into a reactive state, when increased mechanical or oxidative stress is present. This process is stimulated by liberated cytokines such as tumor growth factor (TGF) [6]. Active astrocytes release great quantities of metalloproteinase – 9 (MMP – 9). This enzyme is certainly associated with both retinal ganglion cell death and tissue

remodeling. The pharmacological inhibition of MMP – 9 with Ilomastat helps prevent cell loss in animal models. Furthermore, MMP -9 knockout mice with ligated optic nerve does not exhibit indications of RGCs apoptosis. [25, 6].

Neurotrophin deprivation

Neurotrophins are small peptides that are categorized in a class of compounds that also includes growth factors. The existence of all neurons (cell growth and maintenance of neuronal connections), is definitely depending on receiving a certain amount of neurotrophins. Solid evidence has now shown that ganglion cells are counting on several different neurotrophins, but mainly on one known as brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Retinal ganglion cells receive their BDNF supply from neurons in the lateral geniculate nucleus or superior colliculus of the brain. In other words, RGCs take up released neurotrophins from its target neuron and transport it along their axons back into the cell bodies in the retina [36]. When IOP is elevated or varying, it may cause deformation of the lamina cribrosa, which leads to mechanical compression of RGC axons. This lowers or stops retrograde transport of vital neurotrophic factors such as BDNF [16]. One approach that is currently being considered for glaucoma therapy is to provide another source of BDNF for the ganglion cells via intravitreal shots of extrinsic growth factors. In animal models this intervention drastically decreased the speed of ganglion cell death after ligation of the optic nerve [36]. Further investigation of the possible side effects is required.

Protein Misfolding and autoimmune reactions

Misfolded proteins for instance amyloid β ($A\beta$) are a distinguished characteristic of numerous neurodegenerative conditions, such Alzheimer's(AD), Huntington's and Parkinson's, with an accumulation of abnormal protein plaques in the brain [6]. Additionally, evidence of a relationship between glaucoma and AD has emerged from studies pointing out that patients with AD have RGC loss and some typical glaucomatous changes [44], as is also the situation with Parkinson's disease [1]. Research projects have shown that $A\beta$ is certainly implicated in the development of RGC apoptosis in experimental glaucoma. Solid facts was provided that attacking $A\beta$ (eliminating $A\beta$ deposition and limiting $A\beta$ aggregation through the use of $A\beta$ antibodies) [37] may successfully cut down glaucomatous RGC apoptosis. Amyloid β antibodies ($A\beta$ abs) have been proven to reduce RGC apoptosis for up to 16 weeks after a single dose in rat glaucoma model [6].

Heat-shock proteins (HSPs) are proteins that are constitutively expressed in most cells under normal physiological conditions and are thought to play a significant part in cellular function. The main role that HSPs play is that of molecular chaperones. In response to a number of stresses such as high temperature, hypoxia, and in the presence of liberated cytokines, cells intensively synthesize large quantities of HSPs. Owing to their shielding ability and capability to rebuild misfolded proteins,

the increased expression of HSPs assists the cell survival in stressful conditions and also supports recovery from stress. Increased titers of circulating antibodies against Hsp27 have already been identified in patients with glaucoma [6] which may interfere with the role of these proteins as a cellular defense system in response to stress or injury in glaucoma. This could have pathogenic significance in some patients with glaucomatous optic neuropathy [13] and development of decoy antigens or vaccines may be a beneficial method to obtain neuroprotection in glaucoma. Geranylgeranylacetone, an acyclic polyisoprenoid, induces upregulation of HSP-72 expression in RGCs and defends them from glaucomatous damage in a rat glaucoma model [6].

Disregulation of components of the trabecular meshwork

It seems that morphological alterations in the trabecular meshwork's structure can potentially precede raised IOP. Glycosaminoglycans (GAGs) contribute to the filtration barrier by forming heavily viscous, elastic gelatinous substance which works like a filtration system. These properties of GAGs are essential for the normal aqueous outflow. Scientists have matched the GAG content of the juxtacanalicular tissue of the trabecular meshwork in normal and glaucomatous eyes and have noticed a major reduction in hyaluronic acid and increase in chondroitin sulfate in the eyes of patients with glaucoma [18, 19].

Sustaining a sufficient level of hyaluronic acid may be necessary for keeping a well hydrated meshwork [14]. Owing to the morphological changes observed in collagen structures associated with glaucoma, it seems important to take a look at the effect of nutritional substances which are believed to exert specific influences on GAGs.

Experts first investigated the effect of high dose vitamin C on animals and then humans, and discovered that it effectively lowered IOP. In large quantities it acts as a strong osmotic agent. Vitamin C's power to stop lipid peroxidation has been hypothesized to be important, as well as its ability to promote synthesis of hyaluronic acid in the trabecular meshwork. The most suitable dose for glaucoma patients to take is likely to be somewhere between 900 and 1200 milligrams a day [30]. *Vaccinium myrtillus* (bilberry) holds promise in the treatment of glaucoma (Figure 7). Eight patients with glaucoma were given a single dose of 200 mg anthocyanosides from bilberry.



Fig. 7
Vaccinium myrtillus (Bilberry) Source:
Google images

Some improvements were noted in the electroretinogram [8]. The anthocyanosides have collagen-stabilizing effect which exert a positive influence on the trabecular meshwork, facilitating aqueous outflow. Vitamin B9 (folic acid) is essential for DNA and RNA synthesis. These B-complex vitamin is especially important because when deficient in folic acid, the trabecular meshwork does not get sufficient or adequate cellular renewal. New cells are not generated properly without good nutrition, lack of which results in premature aging [30].

Apoptotic Death Pathways activation or the “Cell death”

Apoptosis is actually a type of cell death already pre-programmed in cell's genes that is actively used by them during tissue remodeling and development. Once it receives the correct signal, the cell initiates a program which leads its death [36]. In this program there is always an activation of the caspase cascade [12], enhanced expression of proapoptotic genes such as Bax/Bid and downregulation of antiapoptotic genes namely Bcl-2/Bcl-xl [23]. Taking a lead from viruses that use caspase inhibition to avoid apoptosis of the cell they have infected, pharmacological interventions that block the caspase cascade may be neuroprotective [6]. Caspase-3 blockers enhance survival of RGCs in many models of glaucoma [9]. Enzymatically inactive caspase mimetic (Ile-Gln-Ala-Cys-Arg-Gly; IQACRG), a caspase substrate-binding peptide, saves rat RGCs from death [38]. TNF- α is a crucial mediator of cellular apoptosis as it induces mitochondrial cell death pathways. Tumor necrosis factor- α inhibitors such as GLC756, a dopamine receptor antagonist, inhibit TNF- α release, and are also suggested as possible treatment in glaucoma [21]. An extra technique to prevent apoptosis is to stimulate the expression of antiapoptotic genes such as Bcl-2 and Bcl-xL, yet, possible increased tumorigenesis must be taken into consideration.

CONCLUSION

Summing up, the treatment of glaucoma appears to be at the beginning of an interesting new era in which the whole process of cell death, from its activation to its end, will be influenced with the aid of medications. Starting with lowering the IOP, clinicians will be able to treat other aspects of glaucomatous damage, avoiding the activation of ganglion cell apoptosis and directly blocking the apoptotic program. Studies and clinical trials, devoted on the treatment of other neurodegenerative pathologies like Alzheimer's disease and ALS, must be taken into consideration by glaucoma researchers. Tremendous progress in the field of glaucoma treatment comes from this cooperation. A big obstacle is that it continues to be very difficult to determine the rate of progression in glaucoma, due to the lack of powerful imaging methods to visualize RGCs in the process of apoptosis. With the development of the fluorescent neuroretinal imaging scientist will be able to see objectively which medications exhibit solid protective effects on RGCs. This will provide an opportunity for further progress and research.

REFERENCES

1. Andreas U Bayer, MDOthmar N Keller, MD Accepted: July 23, 2001; Association of glaucoma with neurodegenerative diseases with apoptotic cell death: Alzheimer's disease and Parkinson's disease
2. Arthur H. Neufeld, Akira Sawada Inhibition of nitric-oxide synthase 2 by aminoguanidine provides neuroprotection of retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma
3. Aydemir O, Naziroglu M, Celebi S, Yilmaz T, Kukner AS. Antioxidant effects of α -, γ - and succinate-tocopherols in guinea pig retina during ischemia-reperfusion injury. *Pathophysiology* 11(3), 167–171 (2004).
4. Barinaga M. Neurotrophic factors enter the clinic. *Science* 1994
5. Bensimon. G, L. Lacomblez A controlled trial of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis 1994 Mar 3
6. Brian Chua, Ivan Goldberg Neuroprotective Agents in Glaucoma Therapy: Recent Developments and Future Directions *Expert Rev Ophthalmol.* 2010;5(5):627-636.
7. Carelli V, La Morgia C, Valentino ML, Barboni P, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Retinal ganglion cell neurodegeneration in mitochondrial inherited disorders. *Biochim Biophys Acta.*2009
8. Caselli L. Clinical and electroretinographic study on activity of anthocyanosides. *Arch Med Interna* 1985;37:29-35.
9. Chen TA, Yang F, Cole GM, Chan SO. Inhibition of caspase-3-like activity reduces glutamate induced cell death in adult rat retina. *Brain Res.* 904(1), 177–188 (2001).
10. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 1996
11. Ettaiche M, Fillacier K, Widmann C, Heurteaux C, Lazdunski M. Riluzole improves functional recovery after ischemia in the rat retina. *Invest. Ophthalmol.* (1999).
12. Green DR. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell* 94(6), 695–698 (1998).
13. Gulgiin Tezel,1 Gail M. Seigel,2 and Martin B. Wax1 Autoantibodies to Small Heat Shock Proteins in Glaucoma
14. Head, Kathleen Natural Therapies for Ocular Disorders Part Two: Cataracts and Glaucoma. 04/01/2001
15. Hui Lin, Ching-Liang Hsieh1*Efficacy and Safety of Memantine, an NMDA-Type Open-Channel Blocker, for Reduction of Retinal Injury Associated with Experimental Glaucoma in Rat and Monkey
16. Johnson EC, Guo Y, Cepurna WO, Morrison JC. Neurotrophin roles in retinal ganglion cell survival: lessons from rat glaucoma models. *Exp. Eye Res.* 88(4), 808–815 (2009).
17. Kaur C, Foulds WS, Ling EA. Blood-retinal barrier in hypoxic ischaemic conditions: basic concepts, clinical features and management. *Prog Retin Eye Res.* 2008
18. Knepper PA, Goossens W, Hvizd M, Palmberg PF. Glycosaminoglycans of the human trabecular meshwork in primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:1360-1367.
19. Knepper PA, McLone DG. Glycosaminoglycans and outflow pathways of the eye and brain. *Pediatr Neurosci* 1985;12:240-251.
20. Koseki N, Araie M, Tomidokoro A et al. A placebo-controlled 3-year study of a calcium blocker on visual field and ocular circulation in glaucoma with low–normal pressure. *Ophthalmology* 115(11), 2049–2057 (2008).

21. Laengle UW, Markstein R, Pralet D, Seewald W, Roman D. Effect of GLC756, a novel mixed dopamine D1 receptor antagonist and dopamine D2 receptor agonist, on TNF- α release in vitro from activated rat mast cells. *Exp. Eye Res.* 83(6), 1335–1339 (2006).
22. Laurent TC, Laurent UB, Fraser JR. Function of hyaluronan. *Ann Rheum Dis* 1995
23. Levin LA, Schlamp CL, Spielloch RL, Geszvain KM, Nickells RW. Identification of the Bcl-2 family of genes in the rat retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 38(12), 2545–2553 (1997).
24. Li Guo *Thomas E. Salt † , Vy Luong † Targeting amyloid- β in glaucoma treatment
25. Maneli Mozaffarieh, Josef Flammer: Pocket Reference to Ocular Blood Flow and Glaucomatous Optic Neuropathy
26. Manelli Mozaffarieh, Josef Flammer: A novel perspective on natural therapeutic approaches in glaucoma therapy *Expert Opin. Emerging drugs* 2007
27. Manelli Mozaffarieh, Josef Flammer: Is there more to Glaucoma Treatment than lowering IOP? *Expert Opin. Emerging drugs* 2007
28. Mao Nakayama, I Makoto Aihara, I Yi-Ning Chen Neuroprotective effects of flavonoids on hypoxia-, glutamate-, and oxidative stress-induced retinal ganglion cell death
29. Mansour-Robaey S, Clarke DB, Wang Y-C, Bray GM, Aguayo AJ. Effects of ocular injury and administration of brain-derived neurotrophic factor on survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994
30. Marks, Edith S. Nutrition as a major oral therapy for glaucoma. 11/01/2011
31. Merte HJ, Merkle W. Long-term treatment with Ginkgo biloba extract of circulatory disturbances of the retina and optic nerve.
32. Naim Terai*, Alexandra Gedenk, The short-term effect of flavonoid-rich dark chocolate on retinal vessel diameter in glaucoma patients and age-matched controls Article first published online: 16 MAR 2014
33. Nathan Radcliffe, MD Emerging evidence is moving toward putting visual preservation first in glaucoma treatment.
34. Netland PA, Chaturvedi N, Dreyer EB. Calcium channel blockers in the management of low-tension and open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1993
35. Quigley HA. Open-angle glaucoma. *New Engl. J. Med.* 1993
36. Robert W. Nickells : Neuroprotection: Is there more for the treatment of glaucoma than pressure-management therapy?
37. Schwartz, Michal PhD Lessons for Glaucoma From Other Neurodegenerative Diseases: Can One Treatment Suit Them All?
38. Seki M, Soussou W, Manabe SI, Lipton SA. Caspase substrate-binding peptide IQACRG protects rat retinal ganglion cells from N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 51(2), 1198–1207 (2010).
39. Sucher NJ, Lipton SA, Dreyer EB. Molecular basis of glutamate toxicity in retinal ganglion cells. *Vision Res.* 1997
40. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res.* 2006;25:490–513. [PMC free article] [PubMed]
41. Theodore Krupin: Systemic Calcium Channel Blockers and Glaucoma Therapeutics and Techniques
42. Tsai-William Hare, Elizabeth WoldeMussie, Pharmacological effects of Salvia miltiorrhiza (Danshen) on cerebral infarction
43. Veach 2004 Glaucoma: An Open Window to Neurodegeneration and Neuroprotection

44. Vincenzo Parisi, Rita Restuccia Morphological and functional retinal impairment in Alzheimer's disease patients
45. Vorwerk CK, Lipton SA, Zurakowski D, Hyman BT, Sabel BA, Dreyer EB. Chronic low-dose glutamate is toxic to retinal ganglion cells. Toxicity blocked by memantine. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1996
46. Wang X. The antiapoptotic activity of melatonin in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci. Ther.* 15(4), 345–357 (2009).
47. Xu H, Chen M, Forrester JV. Para-inflammation in the aging retina. *Prog Retin Eye Res.* 2009
48. Young AJ, Johnson S, Steffens DC, Doraiswamy PM. Coenzyme Q10: a review of its promise as a neuroprotectant. *CNS Spectr.* 12(1), 62–68 (2007).

Received: 27.01.2016

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

OVERVIEW OF THE ANATOMY AND PHYSIOLOGY OF PAIN

ELENA DZHAMBAZOVA*

Department of Chemistry, Biochemistry, Physiology and Pathophysiology,
Faculty of Medicine, Sofia University “St. Kliment Ohridski”, Sofia, Bulgaria

Елена Джамбазова. ПРЕГЛЕД НА АНАТОМИЯТА И ФИЗИОЛОГИЯТА НА БОЛКАТА

Болката е най-честото оплакване срещано от лекарите и като преживяване е повече от прост сензорен процес. Тя е резултат от комплексното взаимодействие между сигналните невромедиаторни системи, модулацията от по-висшите центрове, емоционалното състояние, висшите умствени процеси и уникалното възприятие на индивида. Тази статия дава сравнително широк преглед на анатомията и физиологията на болката. Систематично са описани нормалните болкови пътища от ноцицепторите до централната нервна система и обратно към периферията. Разгледани са и са обяснени някои от механизмите, свързани с болковото предаване.

Pain is the most common presenting complaint seen by physicians. The experience of pain is more than a simple sensory process. Pain is the result of a complex interplay between signalling systems, modulation from higher centres, emotional states, higher order mental processes and the unique perception of the individual. This article gives a relatively broad overview of the anatomy and physiology of pain. The normal pain pathways are described in some detail in a systematic fashion from nociceptor to central nervous system and back to periphery. Some of the mechanisms involved with pain transmission are also discussed and explained.

Key words: pain, nociceptive and antinociceptive systems, peripheral and central sensitization

* *For contact:* Elena Dzhambazova, PhD, Assoc. Prof., Faculty of Medicine, Sofia University “St. Kliment Ohridski”, tel.: 00359 9607 848; email: ebdzhambaz@uni-sofia.bg

INTRODUCTION

Pain is the most common presenting complaint seen by physicians (Lawrence and McLemore, 1983). Sometimes the pain is the result of obvious injury or is associated with readily identifiable disease; at other times, it has no obvious cause or seems disproportionate to the disease or injury. Some pain disappears with healing or is self-limited, but some persists. Some disease processes, of course, cause long-lasting, severe, and even debilitating pain; but for most people, an episode of acute pain does not become chronic.

The experience of pain is more than a simple sensory process. In 1996 the International Association for the Study of Pain (IASP) defined pain as “an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, or described in terms of such damage”. Pain is a subjective experience. It cannot be easily measured and it requires consciousness. Pain is the result of a complex interplay between signalling systems, modulation from higher centres, emotional states, higher order mental processes and the unique perception of the individual.

What is the purpose of pain? A withdrawal reflex response to an acute noxious stimulus is an understandable and necessary reaction that has an obvious protective function even in the absence of conscious perception. More importantly, the *experience* of pain may lead to the avoidance of potentially harmful situations and possible injury. Immobility and withdrawal due to pain may serve to provide an environment in which healing and restoration of function can occur. The severe deformities developed by individuals with a rare congenital insensitivity to pain illustrate the useful protective function provided by the sensation of pain (Hudspith 2005: 267–285).

TYPES OF PAIN

Cervero and Laird (1991) distinguish between three types of pain. Application of an acute noxious stimulus to normal tissue elicits *acute physiological nociceptive pain*. It protects tissue from being (further) damaged because withdrawal reflexes are usually elicited. *Pathophysiological nociceptive pain* occurs when the tissue is inflamed or injured. It may appear as spontaneous pain (pain in the absence of any intentional stimulation) or as hyperalgesia and/or allodynia. Hyperalgesia is extreme pain intensity felt upon noxious stimulation, and allodynia is the sensation of pain elicited by stimuli that are normally below pain threshold. In non-neuropathic pain, some authors include the lowering of the pain threshold in the term hyperalgesia (Schaible 2006: 3–28). While nociceptive pain is elicited by stimulation of the sensory endings in the tissue, *neuropathic pain* results from injury or disease of neurons in the peripheral or central nervous system. It does not primarily signal noxious tissue stimulation and often feels abnormal. Its character is often burning or electrical, and it can be persistent or occur in short episodes (e.g.

trigeminal neuralgia). It may be combined with hyperalgesia and allodynia. During allodynia even touching the skin can cause intense pain. Causes of neuropathic pain are numerous, including axotomy, nerve or plexus damage, metabolic diseases such as diabetes mellitus, or herpes zoster. Damage to central neurons (e.g. in the thalamus) can cause central neuropathic pain.

According to Schaible (2006: 3–28), there are several reasons to modify the relatively simple classification of pain above. First, in many cases pain is not strictly inflammatory or neuropathic because neuropathy may involve inflammatory components and neuropathic components may contribute to inflammatory pain states. Second, pain research now addresses other types of pain such as pain during surgery (incisional pain), cancer pain, pain during degenerative diseases (e.g. osteoarthritis), or pain in the course of psychiatric diseases. This research will probably lead to a more diversified classification that takes into account general and disease-specific neuronal mechanisms.

An important aspect is the distinction between acute and chronic pain. Usually pain in patients is called “chronic” when it lasts longer than 6 months (Russo 1998: 123–133). Chronic pain may result from a chronic disease and may then actually result from persistent nociceptive processes. More recently the emphasis with chronic pain is being put on its character. In many chronic pain states the causal relationship between nociception and pain is not tight and pain does not reflect tissue damage. Rather psychological and social factors seem to influence the pain, e.g. in many cases of low back pain (Kendall 1999: 545–554). Chronic pain may be accompanied by neuroendocrine dysregulation, fatigue, dysphoria, and impaired physical and even mental performance (Chapman 1999: 2233–2237).

THE NOCICEPTIVE SYSTEM

The neural process involving the transduction and transmission of a noxious stimulus to the brain via a pain pathway is called nociception. Neurons involved in nociception form the nociceptive system. The ‘noxious’ information is transduced by the pain receptors into an electrical signal and transmitted from the periphery to the central nervous system (CNS) along axons of primary afferent nociceptors. Primary afferent nociceptors are pseudounipolar neurons with the cell bodies located in either the dorsal root ganglia (DRG) or trigeminal. The peripheral processes of these neurons ramify profusely and innervate a wide variety of tissues, where they lose their perineural sheath. Their central process projects to the spinal cord dorsal horn. The peripheral axon terminal is not only a transducer of mechanical, thermal, or chemical energy into series of action potentials relayed to the spinal cord. The nociceptors sensory endings can also exert efferent functions in response to tissue injury by releasing neuropeptides such as substance P (SP), calcitonin gene-related peptide (CGRP) and neurokinin A (NKA). Thereby they induce vasodilatation, plasma extravasation, attraction of macrophages or degranulation of mast cells,

etc. This inflammation is called neurogenic inflammation (Lynn 1996: 229–239; Schaible 2006: 3–28).

Pain receptors and primary afferents

Pain receptors or nociceptors are widespread in skin, muscle, connective tissues, blood vessels, and viscera. They are activated specifically by painful stimuli. There are two types of nociceptors: high-threshold mechanoreceptors (HTM), which respond to mechanical deformation and polymodal nociceptors (PMN), which respond to different modes of stimuli, including noxious thermal (generally above approximately 45°C), noxious mechanical, and noxious chemical stimuli (Belmonte 1996). In addition, joint, skin and visceral nerves contain A δ and C fibres that were named silent nociceptors. These neurons are not activated by noxious mechanical and thermal stimuli in normal tissue. However, they are sensitized during inflammation by so called inflammatory mediators: hydrogen ions, 5-hydroxytryptamine (5-HT), cytokines, bradykinin, histamine, prostaglandins, leucotrienes bathe the nociceptors, activating and sensitizing them (see Peripheral sensitization below). Thus silent nociceptors start to respond to mechanical and thermal stimuli (Schaible 1988:123–133; Weidner 1999: 10184–10190). In humans this class of nociceptors exhibits a particular long-lasting response to algogenic chemicals, and such nociceptors are crucial in mediating neurogenic inflammation (Ringkamp 2001: 4460–4468.). Moreover, they play a major role in initiating central sensitization (Klede 2003: 353–359). These neurons have distinct axonal biophysical characteristics separating them from polymodal nociceptors (Orstavik 2003: 567–578; Weidner 1999: 10184–10190).

Nociceptive afferents lack specialized terminal structures and are morphologically ‘free’ nerve endings of nerve fibres. There are two main fibre types: A δ and C fibres. The majority of nociceptors are C-fiber PMN. C fibers are thin (< 2 μ m diameter), unmyelinated, with a conduction velocity of less than 2 m/s. However, not all unmyelinated fibers are nociceptors: some respond to nonnoxious heat or mechanical stimuli. HTM are thinly myelinated A δ fibers, which have a diameter of 2–5 μ m and a conduction velocity of 6–30 m/s. The ratio of myelinated to unmyelinated fibers in cutaneous nerves is about 1:4. Most small-diameter primary afferents are mechanically sensitive, although some are sensitive to thermal stimuli. Approximately 10% of cutaneous myelinated fibers and 90% of unmyelinated fibers are nociceptive (Hudspith 2005: 267–285). Brief cutaneous stimuli can result in separate and distinct sensations, referred to as ‘fast’ and ‘slow’ pains. Fast pain is caused by activation of faster-conducting cutaneous A δ fibers and is perceived as a short-lasting, pricking type of pain. Slow pain is believed to be caused by the activation of slower-conducting cutaneous C fibers, and is perceived as a dull, poorly localized, burning type of pain.

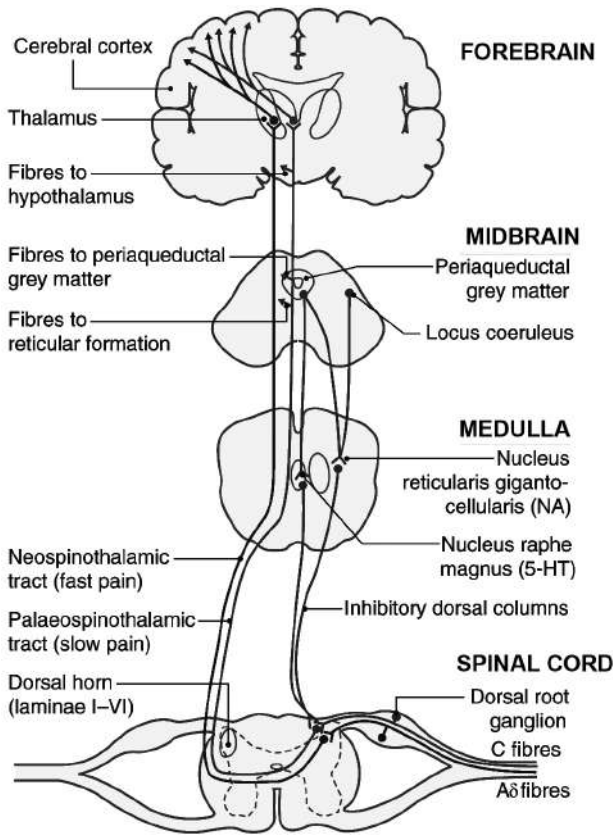


Fig. 1. Spinal and supraspinal pathways of pain

In contrast to cutaneous pain, which is frequently sharp and well localized to the area of stimulation, visceral pain is diffuse, dull, and poorly localized. It is frequently associated with visceral autonomic reflexes, manifest as nausea and sweating. The poor localization of visceral pain may be a consequence of the low number of afferent fibers compared with the size of the surface that is innervated; these fibers converge on dorsal horn neurons over a wide number of segments.

Although all pain fibres terminate in the dorsal horn, their route to this end-point varies. Most enter the dorsal horn in the ventro-lateral bundle of the dorsal root (Fig. 1). They travel just lateral to the larger-diameter myelinated Aβ fibres, which respond to non-painful stimuli such as vibration and light touch. However, 30% of the C fibres enter the spinal cord via the ventral root. Once they have entered the spinal cord the nerve roots may bifurcate into ascending and descending branches, which can enter the dorsal horn one or two segments higher or lower than the segment of origin. Visceral afferents converge on

Nociceptive information from visceral organs is transmitted by visceral afferents to the spinal cord and then in the spinothalamic tracts to the brain (Fig. 1). The cell bodies are located in the dorsal root ganglia, and fibers travel with sympathetic and parasympathetic axons. Thermal and mechanical stimuli that are painful when applied to the skin, are not usually painful when applied to the viscera. For instance, the brain or bowel can be cut without any sensation of pain. Visceral pain arising from hollow organs commonly results from distension or prolonged contraction of smooth muscle wall of the structure.

second-order dorsal horn cells that also receive cutaneous spinal segmental input. This may give rise to the phenomenon of *referred pain* in dermatomal segments corresponding to their cutaneous innervation, and may result in allodynia and hyperalgesia in this skin area. Cutaneous referral may also be a consequence of considerable branching of peripheral visceral afferents, such that a single DRG cell may have axonal branches supplying both deep and superficial structures.

Peripheral Sensitization

During inflammation the excitation threshold of polymodal nociceptors drops such that even normally innocuous, light stimuli activate them. Noxious stimuli evoke stronger responses than in the non-sensitized state. After sensitization of “pain fibres”, normally non-painful stimuli can cause pain. Cutaneous nociceptors are in particular sensitized to thermal stimuli; nociceptors in deep somatic tissue such as joint and muscle show pronounced sensitization to mechanical stimuli (Campbell 2005: 229–242; Mense 1993: 241–289; Schaible 1993: 5–54). In addition, during inflammation initially mechano-insensitive nerve fibres become mechano-sensitive. This recruitment of silent nociceptors adds significantly to the inflammatory nociceptive input to the spinal cord. Resting discharges may be induced or increased in nociceptors because of inflammation, providing a continuous afferent barrage into the spinal cord.

The first cloned nociceptive ion channel which is expressed in about 40% of DRG cells was the TRPV₁ receptor (Fig. 2). This ion channel is opened by binding of capsaicin, the compound in hot pepper that causes burning pain. In particular, Ca²⁺ flows through this channel and depolarizes the cell. The TRPV₁ receptor is considered one of the transducers of noxious heat because it is opened by heat (>43°C). In TRPV₁ knock-out mice, the heat response is not abolished but the mice do not exhibit thermal hyperalgesia during inflammation, showing the importance of TRPV₁ for inflammatory hyperalgesia (Caterina 2000: 306–313; Davis 2000: 183–187). Up-regulation of TRPV₁ transcription during inflammation explains longer-lasting heat hypersensitivity (Ji 2002: 57–68; Wilson-Gering 2005: 758–767). Following experimental nerve injury and in animal models of diabetic neuropathy, TRPV₁ receptor is present on neurons that do not normally express TRPV₁ (Rashid 2003: 709–717; Hong 2005: 618–627; Schaible 2006: 3–28).

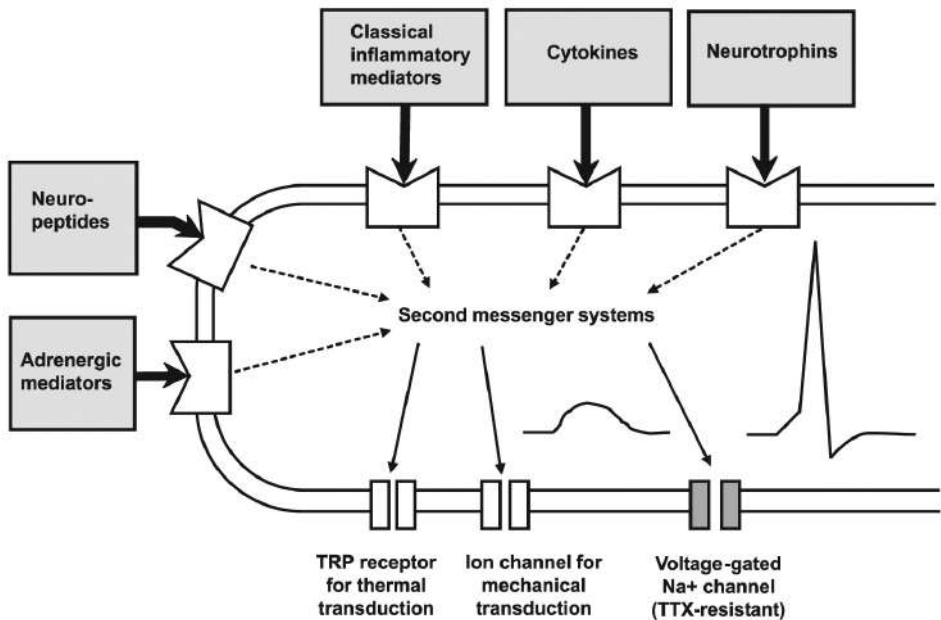


Fig. 2. Model of the sensory ending of a nociceptor showing ion channels for transduction of thermal and mechanical stimuli and action potential generation and metabotropic receptors subserving chemosensitivity (Schaible 2006:177:3–28).

The TRPV₁ receptor is a member of the TRP (transient receptor protein) family. Other TRP members may be transducers of temperature stimuli in other ranges (Papapoutian 2003: 529–539). The TRPV₂ receptor in nociceptors is thought to be a transducer for extreme heat (threshold >50°C). TRPA₁ could be the transducer molecule in nociceptors responding to cold (Peier 2002: 705–715). It is activated by pungent compounds, e.g. those present in cinnamon oil, mustard oil and ginger (Bandell 2004: 849–57). By contrast, TRPV₃ and/or TRPV₄ may be transduction molecules for innocuous warmth in warm receptors, and TRPM₈ may transduce cold stimuli in innocuous cold receptors. Although the putative warmth transducer TRPV₄ shows some mechano-sensitivity, it is still unclear whether TRPV₄ is involved in the transduction of mechanical stimuli (Marchand 2005: 521–532; Schaible 2006: 3–28).

While most voltage-gated Na⁺ channels are blocked by tetrodotoxin (TTX), many small DRG cells express TTX-resistant (R) Na⁺ channels in addition to TTX-sensitive (S) Na⁺ channels. Both TTX-S and TTX-R Na⁺ channels contribute to the Na⁺ influx during the action potential. Interestingly, TTX-R Na⁺ currents are influenced by inflammatory mediators. They are enhanced e.g. by prostaglandin E₂ (PGE₂) that sensitizes nociceptors (McCleskey 1999: 835–856). This raises the possibility that TTX-R Na⁺ channels also play a role in the transduction process

of noxious stimuli (Brock 1998: 211–217). Na⁺ channels that are opened by low pH are called acid sensing ion channels (ASICs). This is of interest because many inflammatory exudates exhibit a low pH. Protons directly activate ASICs with subsequent generation of action potentials (Sutherland 2001: 711–716).

The chemosensitivity of nociceptors allows inflammatory and trophic mediators to act on these neurons. Sources of inflammatory mediators are inflammatory cells and non-neuronal tissue cells. The field of chemosensitivity is extremely complicated due to the large numbers of receptors that have been identified in primary afferent neurons (Gold 2005: 49–67; Marchand 2005: 521–532). Receptors that are involved in the activation and sensitization of neurons are either ionotropic (the mediator opens an ion channel) or metabotropic (the mediator activates a second messenger cascade that influences ion channels and other cell functions). Many receptors are coupled to G proteins, which signal via the production of the second messengers cyclic AMP (cAMP), cyclic guanosine monophosphate (cGMP), diacylglycerol and phospholipase C. Other receptor subgroups include receptors bearing intrinsic protein tyrosine kinase domains, receptors that associate with cytosolic tyrosine kinases and protein serine/threonine kinases (Gold 2005: 49–67). It is beyond the scope of this review to describe all the important mediators.

Functions of mediators are several-fold. Some of them activate neurons directly (e.g. the application of bradykinin evokes action potentials by itself) and/or they sensitize neurons for mechanical, thermal and chemical stimuli (e.g. bradykinin and prostaglandins increase the excitability of neurons so that mechanical stimuli evoke action potentials at a lower threshold than under control conditions). PGE₂, for example, activates G protein-coupled receptors that cause an increase of cellular cAMP. This second messenger activates protein kinase A, and this pathway influences ion channels in the membrane, leading to an enhanced excitability of the neuron with lowered threshold and increased action potential frequency elicited during suprathreshold stimulation. Bradykinin receptors are of great interest because bradykinin activates numerous A δ and C fibres and sensitizes them for mechanical and thermal stimuli (Liang 2001: 229–239). Bradykinin receptor antagonists reverse thermal hyperalgesia, and Freund's complete adjuvant induced mechanical hyperalgesia of the rat knee joints. Some reports suggest that in particular bradykinin B₁ receptors are up-regulated in sensory neurons following tissue or nerve injury, and that B₁ antagonists reduce hyperalgesia. Other authors also found an up-regulation of B₂ receptors during inflammation (Banik 2001: 2727–2735; Segond von Banchet 2000: 424–427).

While prostaglandins and bradykinin are “classical” inflammatory mediators, the list of important mediators will be extended by cytokines. Some cytokines such as interleukin (IL)-1 β are pro-nociceptive upon application to the tissue (Obreja 2003: 1497–1503). It is likely that cytokines play an important role in both inflammatory and neuropathic pain (Marchand 2005: 521–532; Sommer 1995: 63–71).

Neurotrophins are survival factors during the development of the nervous system, but during inflammation of the tissue, the level of nerve growth factor (NGF) is substantially enhanced. By acting on the tyrosine kinase A receptors, NGF increases the synthesis of SP and CGRP in the primary afferents. NGF may also act on mast cells and thereby activate and sensitize sensory endings by mast cell degranulation (Schaible 2004: 237–24).

The spinal cord and the gate-control theory

The dorsal horn of the spinal cord is the site where the primary afferent fibres synapse with second-order neurons. It is also site where complex interactions occur between excitatory and inhibitory interneurons and where descending inhibitory tracts from higher centres exert their effect. The dorsal horn is divided into laminae (called Rexed laminae). There are numerous connections between the laminae. Lamina II is also known as the substantia gelatinosa and this extends from the trigeminal nucleus in the medulla, to the filum terminale at the caudal end of the spinal cord. C fibres terminate in lamina II and A δ fibres terminate in laminae I and V. A β fibres enter the cord medial to the dorsal horn and pass without synapse to the dorsal columns. They give off collateral branches to the dorsal horn which terminate in several laminae (III – V). They also synapse directly with terminals of unmyelinated C fibres in lamina II. Laminae II and V are important areas for the modulation and localization of pain. There are three types of second-order neurons in the dorsal horn: 1. nociceptive specific (NS), found in laminae II and III, which respond selectively to high-threshold noxious stimuli; 2. wide dynamic range (WDR) – found in laminae V and VI, respond to a range of sensory stimuli; 3. low-threshold (LR) – respond solely to innocuous stimuli (Willis 2004). Presumably, encoding of a noxious stimulus is only achieved by a population of nociceptive neurons (Price 2003: 215–219). By contrast, other authors propose that only lamina I neurons with smaller receptive fields are able to encode noxious stimuli, thus forming labelled lines from spinal cord to the cortex (Craig 2003: 1–30).

Pain transmission and modulation at spinal level

The passage of pain information from periphery to central areas, at the spinal cord level, is controlled by the following mechanisms that modulate the pain signals: 1. inhibitory control by higher centres; 2. activity in A β collaterals; 3. segmental (spinal) modulation by a variety of mechanisms including endogenous opioid and cannabinoid systems, inhibitory amino acids such as γ -aminobutyric acid (GABA), neuropeptides – galanin, cholecystokinin and nitric oxide. The first two of the mechanisms act to ‘close the gate’ on the onward transmission of C fibre activity. The gate-control theory is initially proposed by Melzack and Wall in 1965. According to this theory lamina II inhibitory interneurons can be activated directly or indirectly (via excitatory interneurons) by stimulation of non-noxious large

sensory afferents from the skin ($A\beta$ fibres) that would then suppress transmission in small unmyelinated (C fibre) afferents and therefore block the pain (Fig. 3). Thus rubbing a painful area relieves the pain. This is the working mechanism behind transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) in pain control.

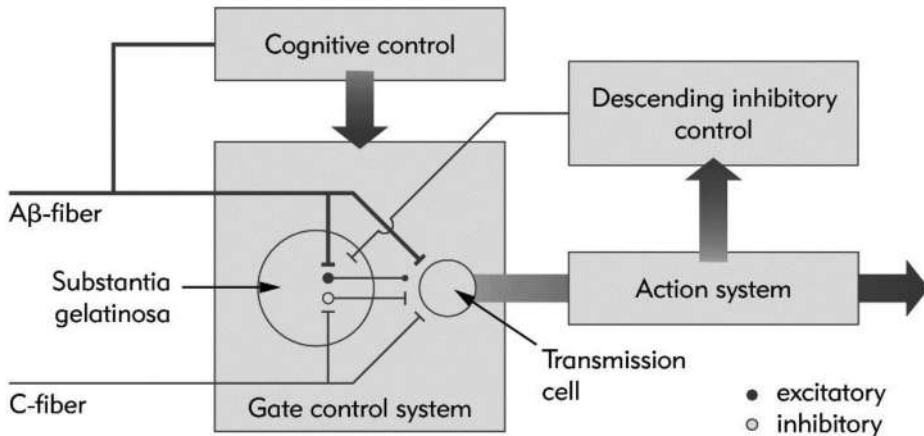


Fig. 3. The gate theory of control. The activity of transmission cells is modulated by both excitatory and inhibitory links from the substantia gelatinosa and by descending inhibitory controls from the brainstem. The inhibitory link may involve both pre- and postsynaptic inhibition. All other connections are excitatory. (Hudspith 2005: 267-285).

Glutamate is a principal transmitter of primary afferent and dorsal horn neurons. It activates ionotropic AMPA/kainate (non-NMDA) and NMDA receptors. Both non-NMDA and NMDA receptors are involved in the synaptic activation of neurons by noxious stimuli (Fundytus 2001: 29–58; Millan 1999: 1–164; Willis 2004). Evoked synaptic activity is blocked in the substantia gelatinosa mainly by antagonists at non-NMDA receptors. The NMDA receptor antagonists usually cause a small reduction of mainly later excitatory post-synaptic potential (EPSP) components. In dorsal horn neurons and in DRG cells are expressed purinergic ATP receptors that mediate enhanced release of glutamate (Willis 2004). Thus ATP has been implicated in synaptic transmission of innocuous mechano-receptive and nociceptive input in the superficial dorsal horn (Fig.4).

Excitatory neuropeptides are co-localized with glutamate. The EPSPs that they mediate usually occur after a latency of seconds and are long-lasting. The excitatory neuropeptides may not be sufficient to evoke action potential generation but act synergistically with glutamate (Urban 1994: 432–438). The expression of excitatory neuropeptide receptors in the neurons can be increased under inflammatory conditions (Carlton 2002: 29–36; Segond von Banchet 2000: 424–427). The normal afferent fibre does not seem to be influenced by stimulation of the sympathetic nervous system. However, primary afferents from inflamed tissue may be activated by sympathetic nerve stimulation.

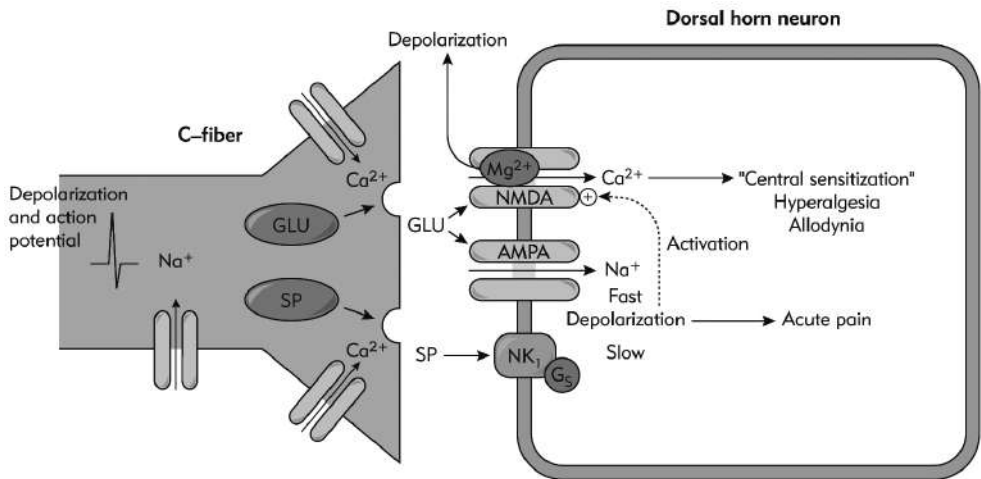


Fig. 4. Pain transduction within the dorsal horn. Acute pain causes brief postsynaptic depolarization of dorsal horn neurons and activation of central pain pathways. More prolonged afferent input via A δ and C fibers causes NMDA receptor activation. Glu, glutamate; NK₁, neurokinin 1; SP, substance P; G_s, G_s protein. (Hudspith 1997: 731–747)

SP is released mainly in the superficial dorsal horn by electrical stimulation of unmyelinated fibres and during noxious mechanical, thermal or chemical stimulation of the skin and deep tissue. Neurokinin-1 (NK-1) receptors for SP are mainly located on dendrites and cell bodies of dorsal horn neurons in laminae I, IV–VI and X. Upon strong activation by SP, NK-1 receptors are internalized. Mice with a deletion of the preprotachykinin A (the precursor of SP and neurokinin A) have intact responses to mildly noxious stimuli but reduced responses to moderate and intense noxious stimuli. Mice with a deleted gene for the production of NK-1 receptors respond to acutely painful stimuli but lack intensity coding for pain and wind-up. In addition, neurokinin A (NKA) is found in small DRG cells and in the dorsal horn and spinally released upon noxious stimulation. CGRP is often colocalized with substance P in DRG neurons. It is spinally released by electrical stimulation of thin fibres and noxious mechanical and thermal stimulation. CGRP binding sites are located in lamina I and in the deep dorsal horn. CGRP enhances actions of SP by inhibiting its enzymatic degradation and potentiating its release. CGRP activates nociceptive dorsal horn neurons; blockade of CGRP effects reduces nociceptive responses. Other excitatory neuropeptides in the dorsal horn are vasoactive intestinal polypeptide (VIP), neurotensin, cholecystokinin (CCK, also with antinociceptive effects), thyrotropin-releasing hormone (TRH), corticotropin-releasing hormone (CRH) and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) (Willis 2004).

γ -Aminobutyric acid (GABA)ergic inhibitory neurons are located throughout the spinal cord. They can be synaptically activated by primary afferent fibres.

Both the ionotropic GABA_A and the metabotropic GABA_B receptor are located pre-synaptically on primary afferent neurons or post-synaptically on dorsal horn neurons. Responses to both innocuous mechanical and noxious stimuli can be reduced by GABA receptor agonists. Some of the inhibitory effects are due to glycine, and the ventral and the dorsal horn contain numerous glycinergic neurons. Glycine may be co-localized with GABA in synaptic terminals. Many DRG neurons and neurons in the dorsal horn express nicotinic and muscarinic receptors for acetylcholine. Application of acetylcholine to the spinal cord produces pro- or anti-nociception (Willis 2004).

The dorsal horn contains leu-enkephalin, met-enkephalin, dynorphin and endomorphins 1 and 2. Enkephalin-containing neurons are particularly located in laminae I and II, with dynorphin-containing neurons in laminae I, II and V. Endomorphin 2 has been visualized in terminals of primary afferent neurons in the superficial dorsal horn and in DRG, but also in postsynaptic neurons. Opiate receptors (μ , δ , κ) are concentrated in the superficial dorsal horn, and in particular μ and δ receptors are located in interneurons and on primary afferent fibres. Opioids reduce release of mediators from primary afferents (presynaptic effect) responses of neurons to (innocuous and) noxious stimulation and responses to ionophoretic application of excitatory amino acids showing post-synaptic effects of opioids (many dorsal horn neurons are hyperpolarized by opiates). In addition to these “classical” opiate receptors, nociceptin (NOP) receptors have been discovered. Nociceptin has similar cellular actions as classical opioid peptides but pro-nociceptive effects have also been described. A related peptide is nocistatin produced from the same precursor as nociceptin. At present it is unknown at which receptor nocistatin acts. Although nocistatin did not bind to the NOP receptor, it bound to the membrane of mouse brain and spinal cord with a high affinity. It plays important roles in the regulation of pain transmission and learning and memory processes in the CNS (Okuda-Ashitaka 2000: 1101–1109).

Somatostatin is expressed in primary afferent neurons, dorsal horn interneurons and axons that descend from the medulla. It is released mainly in the substantia gelatinosa, by heat stimulation. It is not clear whether inhibitory somatostatin is released in the spinal cord from primary afferent fibres or from interneurons. Many nociceptive neurons, for example, seem to be under the tonic inhibitory influence of somatostatin because the application of a somatostatin receptor antagonist enhances activation of the neurons by stimuli (Carlton 2001: 29–36; Heppelmann 1999: 62–64).

Galanin is expressed in a subpopulation of small DRG neurons, and galanin binding sites are also expressed on DRG neurons. Both facilitatory and inhibitory effects of galanin have been described in inflammatory and neuropathic pain states. Neuropeptide Y (NPY) is normally only expressed at very low levels in DRG neurons. It binds to Y₁ and Y₂ receptors of DRG neurons and contribute to pre-synaptic inhibition (Willis 2004).

Spinal processing is influenced by numerous other mediators such as spinal prostaglandins, cytokines and neurotrophins produced in neurons and/or glia cells (Marchand 2005: 521–532; Vanegas 2001: 327–363). They are particularly important under pathophysiological conditions (inflammation). In addition, synaptic transmission is influenced by transmitters of descending systems.

Transmitter release is dependent on Ca^{2+} -influx into the presynaptic ending through voltage-dependent calcium channels. Ca^{2+} also regulates neuronal excitability. Important for the nociceptive processing are high-voltage activated N-type channels, which are mainly located pre-synaptically but also on the post-synaptic side, and P/Q-type high-voltage-gated calcium channels that are located on the pre-synaptic site. Blockers of N-type channels reduce responses of spinal cord neurons and behavioural responses to noxious stimulation of normal and inflamed tissue, and they reduce neuropathic pain. P/Q-type channels are mainly involved in the generation of pathophysiological pain states. A role for high-voltage activated L-type calcium channels and low-voltage activated T-type calcium channels has also been discussed (Vanegas 2000: 9–18).

Central sensitization

After nerve injury changes occur in the dorsal horn of the spinal cord. Repetitive C fibre activation by noxious stimuli leads to a prolonged dorsal horn response. This phenomenon has been termed ‘wind-up’. Within the dorsal horn there is a reduction in local inhibition by the neurotransmitters GABA and glycine and evidence of excitotoxic death of inhibitory interneurons. At the same time there is a strengthening of excitatory synaptic connections. Incoming axons develop ectopic activity and output to the spinothalamic tract (STT) neurons is increased. This process involves neurochemical changes mediated via NMDA, neurokinins, and nitric oxide. The result of all of these changes is that the sensory threshold for pain signalling is lowered and there is spread of the receptive field. In addition it has been shown that structural changes occurs in the dorsal horn of the spinal cord in response to injury. C fibre terminations in the substantia gelatinosa (lamina II) degenerate and $\text{A}\beta$ (fine touch) fibres, which are usually located in laminae III and IV, sprout into lamina II. This may explain allodynia, where light touch is perceived as painful. These changes seem to be triggered by loss of nerve growth factor (Steeds 2016). Finally, there are changes at a supraspinal level. Following injury there is evidence of cortical remapping and reorganization in both the primary somatosensory and motor cortices and in the subcortical areas. This is well recognized following limb amputation where lack of afferent input from the amputated limb leads to less occupation of the corresponding area of the somatosensory cortex. As a result the neighbouring cortical area expands. The clinical manifestation of these changes is that the patient not only develops phantom limb pain very soon after amputation, but also that the phantom limb can sometimes be mapped out by touching a very different site of their body (e.g. pain in phantom hand felt by touching side of

face). Reduction in the intensity of the phantom limb pain by effective treatment can be shown to reverse the cortical changes (Steeds 2016).

Ascending tracts

Ascending pathways in the white matter of the ventral quadrant of the spinal cord include the spinothalamic tract (STT), the spinoreticular tract (SRT), and the spinomesencephalic tract (SMT). The thalamus is the key area for processing somatosensory information. Axons of the STT originate from neurons in lamina I, lamina V and deeper. Axons travelling in the lateral and medial STT terminate in their respective medial and lateral nuclei and from here neurons project to the primary and secondary somatosensory cortices, the insula, the anterior cingulate cortex and the prefrontal cortex. These areas play various roles in the perception of pain and also interact with other areas of the brain, for example the cerebellum and basal ganglia which are areas more traditionally known to be associated with motor function rather than pain (Steeds 2016). Axons of the SRT project to the medial rhombencephalic reticular formation, the lateral and dorsal reticular nucleus, the nucleus reticularis gigantocellularis and others. SRT cells are located in laminae V, VII, VIII and X, and they have prominent responses to deep input. SMT neurons are located in laminae I, IV, V, VII and VIII and project to the parabrachial nuclei and the periaqueductal grey (PAG) and others. The parabrachial projection reaches in part to neurons that project to the central nucleus of amygdala. STT, SRT and SMT cells are either low-threshold, wide dynamic range or nociceptive-specific. In addition, several spinal projection paths have direct access to the limbic system, namely the spinohypothalamic tract, the spino-parabrachio-amygdalar pathway, the spino-amygdalar pathway and others. In some species there is a strong spino-cervical tract (SCT) ascending in the dorsolateral funiculus. SCT neurons process mainly mechano-sensory input, but some additionally receive nociceptive inputs (Willis 2004). Finally, there is substantial evidence that nociceptive input from the viscera is processed in neurons that ascend in the dorsal columns (Willis 2004; Schaible 2006: 3–28).

THE ANTINOCICEPTIVE SYSTEM

Descending inhibition is part of an intrinsic antinociceptive system. Noradrenaline and 5-HT are the key neurotransmitters involved in descending inhibition (Fields 1999: 309–329; Ossipov 2005: 117–130; Steeds 2016). Descending tracts reduce or facilitate the spinal nociceptive processing. The descending tracts are formed by pathways that originate from brainstem nuclei. Two important areas of the brainstem are involved in reducing pain: the PAG and the nucleus raphe magnus (NRM). The first region surrounds the cerebral aqueduct in the midbrain and is important in the control of pain. Electrical stimulation of the PAG produces profound analgesia and injection of morphine here has a far greater analgesic effect than injections anywhere else in the CNS. PAG stimulation produces a significant

analgesic effect to both spontaneous pain and mechanical hypersensitivity in neuropathic rats (Lee 2012: 42–45). The PAG receives inputs from the thalamus, hypothalamus and cortex and also collaterals from the STT. PAG (anti-nociceptor) neurons project to the rostral ventromedial medulla (RVM), which includes the serotonin-rich nucleus raphe magnus (NRM) as well as the nucleus reticularis gigantocellularis pars alpha and the nucleus paragigantocellularis lateralis (Fields 1991: 219–245) and it receives inputs from the hypothalamus, cortical regions and the limbic system (Ossipov 2005: 117–130). Neurons in RVM then project along the dorsolateral funiculus (DLF) to the dorsal horn. The axons of serotonin-containing neurons, like the noradrenalin-containing neurons, synapse on cells in lamina II. They also synapse on cells in lamina III. Stimulation of the raphe nuclei produces a powerful analgesia and it is thought that the serotonin released by this stimulation activates inhibitory interneurons even more powerfully than noradrenaline and thus blocks pain transmission. Agents that block serotonin synthesis attenuate stimulation-produced analgesia, and the application of some serotonin agonists in the spinal cord inhibits cells responsive to nociceptive stimuli. Although these findings appear highly suggestive of a role for serotonin in descending inhibition, several other findings indicate that it is not conclusive. Antinociception produced by stimulation of descending pathways cannot always be blocked by serotonin antagonists. Under certain circumstances intrathecal serotonin can facilitate behavioral nociceptive responses, and serotonin agonists can have an excitatory effect on cells in the superficial dorsal horn. These conflicting results may result from motor effects associated with some behavioral responses, differing effects associated with different serotonin receptor subtypes, and observation of effects on inhibitory neurons (Hudspith 2005: 267–285).

Norepinephrine is also an important neurotransmitter for descending inhibitory controls, and most central noradrenergic neurons originate within the locus ceruleus (LC). Descending projections from the LC give rise to the majority of noradrenergic fibers in the spinal cord. The noradrenergic stress response hypothesis proposes that stimuli that threaten the physical or psychological integrity of the individual generate a central noradrenergic response mediated by the LC: the associated hypervigilance and defensive response is associated with enhanced antinociception. Direct stimulation of noradrenergic cell groups in the brainstem, notably the locus ceruleus, produces antinociception, and norepinephrine-containing terminals are found in the superficial laminae of the spinal dorsal horn. Iontophoretic application of norepinephrine inhibits the activation of dorsal horn neurons by noxious stimuli, and intrathecal norepinephrine results in inhibition of nociceptive responses. Conversely α_2 -adrenoceptor antagonists and compounds that reduce the amount of norepinephrine in the spinal cord increase nociceptive responses.

Supraspinally, there is a high density of opioid receptors in the PAG, nucleus raphe magnus, and LC. The profound analgesia produced by electrical stimulation of these regions is reversed by the opioid antagonist naloxone, which confirms

the importance of endogenous opioid agonists in nociceptive behavior. However, microinjection of opioid agonists into these regions results in complex alterations in pain behavior, reflecting both inhibition and disinhibition (the inhibition of an inhibitory interneuron) of pathways involved in nociception. Subregional differences, dose dependence, and action at specific opioid receptor subtypes further increase the complexity of supraspinal analgesia. For example, high doses of morphine in the clinical setting have occasionally been reported to result in hyperalgesia rather than analgesia. Opioids act at a spinal level in the dorsal horn by activating presynaptic opioid receptors, which inhibit glutamate and neurokinin release from primary afferent terminals, and postsynaptic receptors, which inhibit second-order neuron depolarization. Particularly within the spinal cord dorsal horn, opioid receptor density and distribution are dynamic: inflammation may enhance and nerve injury markedly reduce opioid-mediated spinal analgesia. Changes in presynaptic opioid receptor number and function, at least in part, underlie these effects.

Opioid analgesic mechanisms are themselves modulated by the release of CCK acting on CCK₁ and CCK₂ receptors in the dorsal horn and at supraspinal sites such as the RVM. Microinjection of CCK into the RVM of experimental animals produces behavioural signs of neuropathic pain, and pathologic upregulation of this system has been proposed as a mechanism contributing to opioid-resistant chronic pain states in humans (Hudspith 2005: 267–285).

Exogenous opiates imitate endogenous opioids and induce analgesia by acting upon PAG and RVM in addition to the spinal dorsal horn (Ossipov 2005: 117–130). RVM contains so-called on- and off-cells. Off-cells are thought to exert descending inhibition of nociception, because whenever their activity is high there is an inhibition of nociceptive transmission, and because decreases in off-cell firing correlate with increased nociceptive transmission. On-cells instead seem to facilitate nociceptive mechanisms at the spinal dorsal horn. Thus, RVM seems to generate antinociception and facilitation of pain transmission (Gebhart 2004: 729–737; Ossipov 2005: 117–130). Ultimately, spinal bulbospinal loops are significant in setting the gain of spinal processing (Porreca 2002: 319–325; Suzuki 2002: 1319–1326).

Other transmitters that appear to be important in descending inhibition are acetylcholine, GABA, thyrotropin-releasing hormone, and somatostatin.

A particular form of descending inhibition of WDR neurons is the “diffuse noxious inhibitory control”. When a strong noxious stimulus is applied to a given body region, nociceptive neurons with input from that body region send impulses to structures located in the caudal medulla (caudal to RVM), and this triggers a centrifugal inhibition of nociceptive WDR neurons located throughout the neuraxis (Le Bars 1979a: 283–304, 1979b: 305–327; Hudspith 2005: 267–285).

In summary this article gives a broad overview of the anatomy and physiology of pain. The normal pain pathways are described in some detail in a systematic fashion from nociceptor to central nervous system and back to periphery. It includes explanation of some of the mechanisms involved with pain transmission.

REFERENCE

- Bandell M, GM. Story, SW Hwang, V Viswanath, SR Eid, MJ Petrus, TJ Earley, A. Patapoutia. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin. *Neuron*, 2004, 41(6):849–57.
- Banik RK, Y. Kozaki, J. Sato, L. Gera, K. Mizumura. B2 receptor-mediated enhanced bradykinin sensitivity of rat cutaneous C-fiber nociceptors during persistent inflammation. *J. Neurophysiol.*, 2001, 86:2727–2735.
- Belmonte C, E. Cervero. Neurobiology of nociceptors. 1996, Oxford University Press, Oxford.
- Brock JA, EM. McLachlan, C. Belmonte. Tetrodotoxin-resistant impulses in single nociceptor nerve terminals in guinea-pig cornea. *J. Physiol.*, 1998, 512:211–217.
- Campbell JN, RA. Meyer. Neuropathic pain: from the nociceptor to the patient. In: Merskey H, Loeser JD, Dubner R (eds) *The paths of pain 1975–2005*. IASP Press, Seattle, 2005, pp. 229–242.
- Carlton SM, J. Du, S. Zhou, RE. Coggeshall. Tonic control of peripheral cutaneous nociceptors by somatostatin receptors. *J. Neurosci.*, 2001, 21:4042–4049.
- Carlton SM, RE. Coggeshall. Inflammation-induced up-regulation of neurokinin 1 receptors in rat glabrous skin. *Neurosci. Lett.*, 2002, 326:29–36.
- Caterina MJ, A. Leffler, AB. Malmberg, WJ. Martin, J. Trafton, K.R. Petersen-Zeitz, M. Koltzenburg, AI. Basbaum, D. Julius. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*, 2000, 288:306–313.
- Cervero F, JMA. Laird. One pain or many pains? A new look at pain mechanisms. *News Physiol. Sci.*, 1991, 6:268–273.
- Chapman CR, J. Gavrin. Suffering: the contributions of persistent pain. *Lancet*, 1999, 353:2233–2237.
- Craig AD. Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Annu. Rev. Neurosci.*, 2003, 26:1–30.
- Davis JB, J. Gray, MJ. Gunthorpe, JP. Hatcher, PT. Davey, P. Overend, MH Harries, J. Latcham, C. Clapham, K. Atkinson, SA. Hughes, K. Rance, E. Grau, AJ. Harper, PL. Pugh, DC. Rogers, S. Bingham, A. Randall, SA. Sheardown. Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. *Nature*, 2000, 405:183–187.
- Fields HL, AI. Basbaum. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: Wall PD, Melzack R (eds) *Textbook of pain*. Churchill Livingstone, London, 1999, pp. 309–329.
- Fields HL, MM. Heinricher, P. Mason. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Annu. Rev. Neurosci.*, 1991, 14:219–245.
- Fundytus ME. Glutamate receptors and nociception. *CNS Drugs*, 2001, 15:29–58.
- Gebhart GF. Descending modulation of pain. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2004, 27:729–737.
- Gold MS. Molecular basis of receptors. In: Merskey H, Loeser JD, Dubner R (eds) *The paths of pain 1975–2005*. IASP Press, Seattle, 2005, pp. 49–67.
- Hepplmann B, M. Pawlak. Peripheral application of cyclosomatostatin, a somatostatin antagonist, increases the mechanosensitivity of the knee joint afferents. *Neurosci. Lett.*, 1999, 259:62–64.
- Hong S, JW. Wiley. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in the expression and function of vanilloid receptor 1. *J Biol Chem*, 2005, 280:618–627.
- Hudspith MJ, PJ. Siddall, R. Munglani. Physiology of pain In: *Foundations of Anaesthesia: Basic Sciences for Clinical Practice*, 2nd Edn. H. C. Hemmings Jr and P. M. Hopkins (editors). Published by Elsevier Mosby, 2005, pp. 267–285.

- Ji RR, TA. Samad, SX. Jin, R. Schmoll, CJ. Woolf. p38 MAPK activation by NGF in primary sensory neurons after inflammation increases TRPV1 levels and maintains heat hyperalgesia. *Neuron*, 2002, 36:57–68.
- Kendall NA. Psychological approaches to the prevention of chronic pain: the low back paradigm. *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 1999, 13:545–554.
- Klede M, HO. Handwerker, M. Schmelz. Central origin of secondary mechanical hyperalgesia. *J. Neurophysiol.*, 2003, 90:353–359.
- Lawrence, L., T. McLemore. 1981 Summary: National Ambulatory Medical Care Survey. NCHS Advance Data, No. 88. U.S. Department of Health and Human Services Pub. No. (PHS)83-1250, 1983.
- Le Bars D, AH. Dickenson, JM. Besson. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurons in the rat. *Pain*, 1979a, 6:283–304.
- Le Bars D, AH. Dickenson, JM. Besson. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). II. Lack of effect on non-convergent neurons, supraspinal involvement and theoretical implications. *Pain*, 1979b, 6:305–327.
- Lee KS, YH. Huang, CT. Yen. Periaqueductal gray stimulation suppresses spontaneous pain behavior in rats. *Neurosci. Lett.*, 2012, 514(1):42–45.
- Liang YF, B. Haake, PW. Reeh. Sustained sensitization and recruitment of cutaneous nociceptors by bradykinin and a novel theory of its excitatory action. *J. Physiol.*, 2001, 532:229–239.
- Lynn B. Neurogenic inflammation caused by cutaneous polymodal receptors. *Prog. Brain Res.*, 1996, 113:361–368.
- Marchand F, M. Perretti, SB. McMahon. Role of the immune system in chronic pain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2005, 6:521–532.
- McCleskey EW, MS. Gold. Ion channels of nociception. *Annu. Rev. Physiol.*, 1999, 61:835–856.
- Mense S. Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. *Pain*, 1993, 54:241–289.
- Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.*, 1999, 57:1–164.
- Obreja O, PK. Rathee, KS. Lips, C. Distler, M. Kress. IL-1 β potentiates heat-activated currents in rat sensory neurons: involvement of IL-1 RI, tyrosine kinase, and protein kinase C. *FASEB J.*, 2002, 16:1497–1503.
- Okuda-Ashitaka E, S. Ito. Nocistatin: a novel neuropeptide encoded by the gene for the nociceptin/orphanin FQ precursor. *Peptides*, 2000, 21(7):1101–1109.
- Orstavik K, C. Weidner, R. Schmidt, M. Schmelz, M. Hilliges, E. Jørum, H. Handwerker, HE. Torebjörk. Pathological C-fibres in patients with a chronic painful condition. *Brain*, 2003, 126:567–578.
- Ossipov MH, F. Porreca. Descending modulation of pain. In: Merskey H, Loeser JD, Dubner R (eds) *The paths of pain 1975–2005*. IASP Press, Seattle, 2005, pp. 117–130.
- Papapoutian A, AM. Peier, GM. Story, V. Viswanath. ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2003, 4:529–539.
- Peier AM, A. Moqrich, AC. Hergarden, AJ. Reeve, DA. Andersson, GM. Story, TJ. Earley, I. Dragoni, P. McIntyre, S. Bevan, A. Patapoutian. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell*, 2002, 108:705–715.
- Porreca F, MH. Ossipov, GF. Gebhart. Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci.*, 2002, 25:319–325.
- Price DD, JD. Greenspan, R. Dubner. Neurons involved in the exteroceptive function of pain. *Pain*, 2003, 106:215–219.

- Rashid MH, M. Inoue, S. Bakoshi, H. Ueda. Increased expression of vanilloid receptor 1 on myelinated primary afferent neurons contributes to the antihyperalgesic effect of capsaicin cream in diabetic neuropathic pain in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2003, 306:709–717.
- Ringkamp M, B. Peng, G. Wu, TV. Hartke, JN. Campbell, RA. Meyer. Capsaicin responses in heat-sensitive and heat-insensitive A-fiber nociceptors. *J. Neurosci.*, 2001, 21:4460–4468.
- Russo CM, WG, Brose, Chronic pain. *Annu. Rev. Med.*, 1998, 49:123–133.
- Schaible H.-G. Peripheral and Central Mechanisms of Pain Generation. In Analgesia. Editor Christoph Stein Springer Berlin Heidelberg New York, 2006, pp. 3–28.
- Schaible HG, BD. Grubb. Afferent and spinal mechanisms of joint pain. *Pain*, 1993, 55:5–54.
- Schaible HG, F. Richter. Pathophysiology of pain. *Langenbecks Arch. Surg.*, 2004, 389:237–24.
- Schaible HG, RF. Schmidt. Time course of mechanosensitivity changes in articular afferents during a developing experimental arthritis. *J. Neurophysiol.*, 1988, 60:2180–2195.
- Segond von Banchet G, PK. Petrow, R. Bräuer, HG. Schaible. Monoarticular antigen-induced arthritis leads to pronounced bilateral upregulation of the expression of neurokinin 1 and bradykinin 2 receptors in dorsal root ganglion neurons of rats. *Arthritis Res.*, 2000, 2:424–427.
- Sommer C, JM. Schröder. HLA-DR expression in peripheral neuropathies: the role of Schwann cells, resident and hematogenous macrophages, and endoneurial fibroblasts. *Acta Neuropathol. (Berl.)*, 1995, 89:63–71.
- Steeds CE. The anatomy and physiology of pain. *Surgery*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.11.005>
- Sutherland SP, CJ. Benson, JP. Adelman, EW. McCleskey. Acid-sensing ion channel 3 matches the acid-gated current in cardiac ischemia-sensing neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98:711–716.
- Suzuki R, S. Morcuende, M. Webber, SP. Hunt, AH. Dickenson. Superficial NK1-expressing neurons control spinal excitability through activation of descending pathways. *Nat. Neurosci.*, 2002, 5:1319–1326.
- Urban L, SWN. Thompson, A. Dray. Modulation of spinal excitability: cooperation between neurokinin and excitatory amino acid transmitters. *Trends Neurosci.*, 1994, 17:432–438.
- Vanegas H, HG. Schaible. Effects of antagonists to high-threshold calcium channels upon spinal mechanisms of pain, hyperalgesia and allodynia. *Pain*, 2000, 85:9–18.
- Vanegas H, HG. Schaible. Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord. *Prog. Neurobiol.*, 2001, 64:327–363.
- Weidner C, M. Schmelz, R. Schmidt, B. Hansson, HO. Handwerker, HE. Torebjörk. Functional attributes discriminating mechano-insensitive and mechano-responsive C nociceptors in human skin. *J. Neurosci.*, 1999, 19:10184–10190.
- Willis WD, RE. Coggeshall. Sensory mechanisms of the spinal cord, 3rd edn. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2004.
- Wilson-Gerwing TD, MV. Dmyterko, DW. Zochodne, JM. Johnston, VM. Verge. Neurotrophin-3 suppresses thermal hyperalgesia associated with neuropathic pain and attenuates transient receptor potential vanilloid receptor-1 expression in adult sensory neurons. *J. Neurosci.*, 2005, 25:758–767.

Received: 03.02.2016

НЕОБХОДИМОСТТА ОТ РЕХАБИЛИТАЦИОННА НАМЕСА ПРИ ЧЕРНОДРОБНИТЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ И ВЪЗМОЖНОСТИТЕ КОИТО ПРЕДЛАГА

ИСКРА ТАКЕВА^{1*}, ЛЮБОМИР СПАСОВ²

¹ Отделение по физикална и рехабилитационна медицина, Университетска
Болница „Лозенец“, София

² Клиника по сърдечно-съдова хирургия, Университетска Болница „Лозенец“,
София

Направен е преглед на литературни източници за мястото на физикалната и рехабилитационната медицина при болни с чернодробна трансплантация. Доказана е необходимостта от създаване на прецизни рехабилитационни програмки като част от рутинните грижи при трансплантираните пациенти. Разгледани са модифицируемите рискови фактори и възможните усложнения свързани с имunosупресивната терапия, които могат да бъдат повлияни чрез редовна физическа активност. Дългият процес на рехабилитация е разделен на периоди, в които са очертани основните насоки за въздействи с специфичните подходи на физикалната и рехабилитационна медицина. Не на последно място е посочена необходимостта от лична убеденост на пациентите да бъдат физически активни в дългосрочен аспект, с цел оптимизиране на цялостното здраве, свързано с качеството на живот.

Ключови думи: чернодробна трансплантация, рехабилитационни програми, качество на живот

* За контакти: д-р Искра Такева, Клиника по физикална и рехабилитационна медицина, Университетска Болница „Лозенец“ – София, тел.: 0887310101 E-mail: i.takeva@gmail.com

Iskra Takeva, Lubomir Spassov. The need for rehabilitation intervention for people with a liver transplant and the opportunities it offers

This paper is composed of a literature review on the effects of physical and rehabilitative medicine on patients with a liver transplant. The review establishes a need for creating precise rehabilitation programs as part of the routine care for transplant patients. Immunosuppressive therapy is related to many risk factors and possible complications, which could be overcome through regular physical activity. The paper divides the lengthy process of rehabilitation into periods, providing details on the different directions for action according to the specific methods of physical and rehabilitation medicine. Lastly, the need for encouraging patients to be physically active in the long term in order to optimize their overall health condition, related to better quality of life, is emphasized.

Key words: liver transplantation, rehabilitation programs, quality of life

ВЪВЕДЕНИЕ

Съвременното лечение на заболявания в краен стадии чрез трансплантация на органи става все по-актуално. В световен мащаб годишно се извършват над 35 000 трансплантации на жизненоважни органи.

Чернодробната трансплантация се превърна в утвърден избор за лечение на пациенти с остра чернодробна недостатъчност, терминален стадий на чернодробно заболяване и метаболитни заболявания на черния дроб, за които не съществува алтернативна терапия. Трансплантацията на черен дроб дава възможност за оцеляване, както и подобрява качеството на живот на пациентите. Първата чернодробна трансплантация в България е осъществена на 18 ноември 2004 г от екипа на проф. д-р Любомир Спасов и под ръководството на проф. М. Малаго от Университетска Хирургична Клиника, гр. Есен, Германия. Трансплантирано е 7 месечно кърмаче – Памела. Присаден му е част от черния дроб от жив донор – неговия баща. От този паметен ден за българската трансплантология до края на 2015г в Болница Лозенец са извършени 65 чернодробни трансплантации.

С напредването на трансплантационната дейност, в много водещи медицински центрове преживяемостта на пациентите през първата една година се доближава до 90%, а три годишната преживяемост до 80%. За това допринася и постоянното развитие на имunosупресивната терапия. Въвеждането на циклоспорина в началото на 1980 г. значително намалява острото отхвърляне на присадката – между 50% и 60%. В средата на 1990г. използването на такролимуса позволява намаляването на дозите кортикостероиди и с това води до общо намаляване на сърдечно-съдовите рискови фактори – хиперхолестеролемия, хипертония, затлъстяване. Въпреки тези постижения чернодробната трансплантация е изправена пред значителни предизвикателства - броят на нуждаещите се от нов орган значително надхвърля броя на донорите, продължителната имunosупресивна терапия все още има множеството странични

ефекти. (Атанасова, 2014:9–20)Нараства необходимостта от знания по отношение на степента на физическа активност и как тя се понася при тези пациенти.

Препоръките за редовна физическа активност, като неразделна част от лечението, са общи за пациентите с трансплантация на големи органи. Това е свързано с управлението на общите рискови фактори за сърдечно-съдови заболявания, хипертония, хиперлипидемия и диабет.Посочени са следните причини за необходимостта от редовна физическа активност за реципиентите на трансплантирани органи: рехабилитацията е необходима за следоперативното възстановяване; повечето пациенти по принцип са физически неактивни; висока е честотата на сърдечно-съдовите рискови фактори при тези пациенти, които обаче могат да бъдат модифицирани чрез редовна физическа активност; физическата активност оптимизира функционирането след трансплантация; физическата активност може да намали или дори да предотврати страничните ефекти на имуносупресията.(Painter, 2005:29)

С малко предпазливост реципиентите на органи могат да имат физическа активност и да получат ефекти сравними с тези постигнати при здравето население на същата възраст. Изследвана е реакцията на целия организъм и на трансплантирания орган в отговор на интензивни упражнения и редовна физическа тренировка след трансплантация на големи органи. Направен е извода, че благодарение на активна тренировка по-голяма част от сърдечно-съдовите, хормоналните и метаболитните промени се повлияват положително. (Kjaer,1999:1–14)

Качество на живот и ниво на физическа активност

В последните години качество на живот, свързано със здравето, се използва като важен параметър за оценка не само на хирургичния успех след трансплантацията, но и по време на целия процес на заболяването. (Younossi, 2001: 2199–2205;Kirchner, 2006: 1268–1277;Orr, 2014:1158–1165)

Хроничните чернодробни заболявания намаляват значително качеството на живот и нивото на физическа активност, като основен негов компонент. Предоперативната физическа сила е оценена като 40% до 50% по-малка от очакваната при общото население на същата възраст.(Beyer, 1999:301–309;Jones, 2012: 146–151) В Катедрата по физикална медицина и рехабилитация на Университета на Виена, Австрия е установено намаляване на аеробната физическа годност, изокинетичната мускулна сила и качеството на живот при двадесет и шест души от списъка на чакащите за трансплантация на черен дроб (12 с алкохолна цироза, 8 с постхепатитна цироза и 6 с цироза с друга етиология). Не са открити значителни разлики в целевите параметри, когато са анализирани съгласно етиологията на цирозата. (Wiesinger, 2001:260–265). Това ограничение е многофакторно и други автори потвърждават връзката му с тежестта на заболяването. (Pieber, 2006:322–328, Younossi, 2001: 2199–2205;

Отг, 2014:1158–1165)Получените данни са в основата на дългогодишни проучвания, оценяващи въздействието на предоперативните рехабилитационни програми при тези пациенти. (Wiesinger, 2001: 260–265)

Подобрената преживяемост след трансплантация на черен дроб разширява индикациите за използването и като метод на лечение и увеличава броя на „кандидатите“. Броят на пациентите, които очакват трансплантация далеч надхвърля предлаганото донорство. По време на продължителния период на изчакване в резултат на недохранването и намалената физическа активност при тях настъпва прогресивна декомпенсация свързана с болестта. (Vintro, 2002 :333–347) Намалената физическа активност при пациентите в краен стадий на заболяване на черния дроб е резултат най-вече на загуба на мускулна маса, така наречената „цирозна миопатия“ и на сърдечна дисфункция – „цирозна кардиомиопатия“. Чрез тестови упражнения е установено, че две трети от пациентите с цироза, без кардиопулмонални или други придружаващи заболявания, развиват хронична миопатия и показват значително намален аеробен капацитет. (Epstein, 1998:1701–1707)

Динамометрията е използвана за измерване силата на долните и горните крайници в някои проучвания. Установено е с 25% до 30% намаление в сравнение с контролните групи. (Jones, 2012: 146–151)

Съобщение на автори от калифорнийски университет обсъжда ролята на храненето и физическата активност за мускулно-скелетните усложнения преди и след трансплантация на черен дроб. Те определят недохранването като фактор, който намалява физическа активност и може да доведе до мускулно-скелетни увреждания като кахексия и остеопороза. Дисфункцията на гликогенното съхранение и глюконеогенезата в крайния стадий на чернодробно заболяване води до използването на мускулни белтъчини и мазнини за енергия. Настъпва загубва на тегло и мускулна маса. (Vintro, 2002:333–347) Това е от значение когато се предвижда чернодробна трансплантация. Намалената мускулна маса и изчерпването на мазнини, представлява негативен прогностичен фактор за заболяемост и смъртност при пациентите с цироза. (Giusto, 2014:10682) Тежките отоци и асцит придружаващи заболяването също са причина за тежка умора, намаляване на мускулната сила, повлияват негативно способността за ходене и водят до намаляване на физическата активност. (Jones, 2012: 146–151; Senduran, 2012) При липса на подходящи стратегии за профилактика преди трансплантацията, тези усложнения могат да се засилят след трансплантацията, в резултат на неправилното хранене, следоперативното обездвижване и медикаментозната терапия. **Заклучението е, че подходяща диета и целесъобразна двигателната активност преди операцията могат да подобрят резултатите от трансплантацията.** (Vintro, 2002 :333–347)

Несъмнено пациентите в краен стадий на чернодробно заболяване, подложени на трансплантация подобряват качеството си на живот. Автори изследват качество на живот чрез въпросници преди и след трансплантацията.

та на черен дроб и отчитат значително подобрене във всичките му аспекти. (Kirchner,2006: 1268–77;Orr, 2014:1158–1165)

Максималното поглъщане на кислород (VO (2) макс) е стандартен инструмент, който осигурява обективна оценка на функционалния капацитет на пациентите преди и след трансплантация. (Iscar, 2009:1014–1015) Изследвания на нивото на аеробния капацитет са отчетели значително подобрене след трансплантация на черен дроб. (Lemzye, 2010:174–181)

Трансплантацията на черен дроб е единственото категорично лечение в крайния стадий на чернодробното заболяване за регулиране функциите на черния дроб и оцеляване. Но само по себе си не е достатъчно за възстановяване на общото здравословно състояние, което е нарушено поради загуба на мускулна маса, прекомерна умора, намалена физическа издръжливост и понижен аеробен капацитет.(Senduran, 2012) Ограничените налични данни сочат намалена физическа годност след успешна чернодробна трансплантация, в резултат на хроничното физическо отслабване или миопатия и свързано с имunosупресивните медикаменти.Установено е до 40–60% по-ниско максимално усвояване на кислород от предвиденото, което е сравнимо с наблюдаваното при трансплантацията на други големи органи – сърце и бял дроб (Stephenson,2001:1161–1164)

Физическият капацитет, състава на тялото и качеството на живот могат бъдат подобвени чрез поведенчески промени – подходящо хранене, двигателна активност, инициирани рано след операцията и редовно проследявани. Това показват резултати от рандомизирано клинично изпитване на 151 пациенти подложени на програма от физически упражнения и хранителен режим от 6 до 12 месеца след чернодробната трансплантация в домашни условия.(Krasnoff, 2006:1896–1905)Влиянието на трансплантацията и физическата активност по време на първата следоперативна година са оценени притридесет и осем реципиенти. Следоперативно всички пациенти са подложени на контролирана програма от упражнения за 8 до 24 седмици. Изследван е процеса на дълга рехабилитация след трансплантация на черен дроб, който включва: ранна мобилизация, упражнения с постепенно покачваща се интензивност по време на следоперативния период от три седмици и прогресиране на натоварването до укрепване на мускулната сила, баланс, гъвкавост, аеробни упражнения и след изписването от болницата, до 24 седмици след трансплантацията. Шест месеца след операцията всички проследени физически параметри са значително подобвени. След една година всички пациенти са независими в ежедневните дейности и с повишено ниво на физическа активност.Общото им здравословно състояние е отчетено като отлично или добро. Резултатите показват, че трансплантацията на черен дроб, в съчетание с контролирана рехабилитационна програма след операцията подобрява аеробния капацитет, мускулната сила и физическата работоспособност при пациенти с хронично чернодробно заболяване. (Beuer, 1999:301–309)

Функционално изследване на дишането, ехокардиография и частично кардиопулмонално тестване при натоварване преди и след трансплантацията са довели до извода, че намалението на аеробния капацитет корелира с тежестта на заболяването и незначително се повлиява от самата операция. Контролирани рехабилитационни програми преди и след трансплантацията са необходими за подобряване на функционалния капацитет на тези пациенти. (Lemzye, 2010:174–181).

Физическите упражнения трябва да се препоръчват без колебание при пациентите след чернодробна трансплантация. Съвременното изследване съобщава за въздействието на упражненията с висока интензивност върху кръвотока в трансплантиран черен дроб, сравнен с този при здрави индивиди. Участвали са 12 реципиенти и контролна група от 12 съпадащи по пол и възраст. Получателите са били най-малко 6 месеца след трансплантацията, в стабилно състояние, с нормални биохимични показатели за черния дроб. Програмата се е състояла от 40 минути тичане на бягаща пътека или най-малко 20 минути ходене при 75% от максималния пулс. Измерването на кръвотока в порталната вена е извършено преди започването на тренировъчната програма и веднага след това и е показало добра поносимост от натоварването. (Ersoz, 2003:1456–1457)

Според нас въпроса за упражненията с висока интензивност 6 месеца след чернодробна трансплантация все още е дискусабилен и подлежи на допълнителни изследвания. Необходимо е задълбочено проучване на ролята на подходящо хранене и рехабилитация след трансплантация. (Schütz, 2012:378–383)

Основната цел за подобряване качеството на живот при пациентите подложени на трансплантация може да се постигне чрез прецизно изготвени рехабилитационни програми за повишаване нивото на физическа активност, мускулната сила, предотвратяване на прекомерната умора, повишаване на аеробния капацитет. (van Ginneken, 2007:345–353)

Костна плътност

Съобщено е, че костният обмен е нисък при много пациенти с чернодробна недостатъчност. Ниска костна плътност, а също и фрактури се откриват преди трансплантацията при 12% до 55% от пациентите, в резултат на основното хронично чернодробно заболяване. Доказано е, че състоянието на костите преди трансплантацията може да бъде фактор, който да предскаже фрактурите след трансплантацията. (Kulak, 2014:484–492) Това налага профилактиката на заболяването на костите да се фокусира върху оптимизиране на минералната костна маса преди трансплантацията и предотвратяване на загубата и в ранния следоперативен период. (Ninkovic, 2000: 484–492)

Фрактурите настъпват главно 6–12 месеца след трансплантацията с честота варираща от 24–65%. Патогенезата на костното заболяване след транс-

плантация на органи често се дължи на неблагоприятните последици от имunosупресивните лекарства, както и на дългия период на обездвижване. (Kulak, 2014:484–492, Atamaz, 2006: 1448–1452)

Остеопорозата остава потенциално усложнение на чернодробна трансплантация, въпреки че честотата му може да бъде значително намалена чрез използването на по-ниски дози на глюкокортикостероиди. (Compston, 2003:321–330) Проспективни проучвания свързват риска от загуба на костна маса и фрактури след трансплантацията с възрастта, менопаузата при жените, както и с намалената костна плътност и наличието на фрактура на прешлен преди трансплантацията. В програмите си за управление на костната загуба и предотвратяване на фрактурите, тази публикация включва освен прилагането на медикаменти и проследяване, насърчаване на пациентите да променят начина си на живот, като изключат факторите с неблагоприятно въздействие върху скелета като обездвижване, тютюнопушене и злоупотреба с алкохол. (Kulak, С. А., 2014:484–492) **Наличието на програми за редовна физическа активност преди и след трансплантацията могат да предотвратят загубата на мускулна и костна маса.** (Senduran, 2012)

Метаболитни разстройства

При дългосрочно оцелелите пациенти с чернодробна трансплантация сърдечно-съдовите усложнения, свързани с дислипидемия, хипертония, затлъстяване и диабет се очертават като основната причина за заболяемост и смъртност. Важно е да се направи оценка на потенциалните рискови фактори свързани с тези усложнения, които са част от така наречения метаболитният синдром, за да се предотврати или намали честотата им. Добре известно е, че продължителната имunosупресивна терапия има дългосрочни последици не само върху мускулната и костната маса, но и върху сърдечно-съдовата система, с риск от усложнения. (Basha, 2015:263–268)

Поддържането на теглото е проблем по време на късната следоперативна фаза като резултат от кортикостероидната терапия. (Senduran, 2012) Процентът на затлъстяване при дългосрочно преживелите след чернодробна трансплантация е по-висок отколкото в общата популация. (van Ginneken, 2007:345–353) Понякога реципиентите проявяват фенотип на саркопенно затлъстяване с повишено съдържание на мазнини, но с ниска мускулна маса. Този необичаен състав на тялото се наблюдава въпреки отличното функциониране на присадката и нормализирането на метаболизма и не може да се обясни с приемането на по-голямо количество храна. (Schütz, 2012:378–383)

Проучване отчита 6 месеца след трансплантацията нарастване на серумния холестерол (2,9% преди трансплантацията, срещу 15.3 % след) и на триглицеридите (18,2% преди трансплантацията, срещу 70 % след ЧТ). (Dehghani, 2007: 769–774)

Имуносупресивните лекарства се определят като най-голям рисков фактор за развитието на метаболитни разстройства в трансплантираните пациенти. Въпреки, че циклоспорина, а също и в по-малка степен такролимуса се свързват с тези промени, нездравословни хранителни навици и липсата на физическа активност също се отчитат като рискови фактори. Оптимистичното е, че последните могат да бъде повлияни, ако политиката при консултиране на пациентите е насочена към тях както във фазата преди трансплантацията, така и след това. (Corgeia, 2003: 457–460)

Оценена е ефикасността на рехабилитационната програма при лечение на 30 пациенти, шест месеца след трансплантация на черен дроб. Приложени са аеробни упражнения и упражнения срещу съпротивление и традиционните медицински грижи. Контролната група е получавала само традиционните медицински грижи. Измерванията на мастната маса, мускулна маса, нивото на холестерола и триглицеридите са направени преди и след тримесечно лечение. Резултатите показват значително намаляване нивата на холестерола и триглицеридите в групата на която са приложени упражнения, в сравнение с контролната група ($p < 0.001$). Налице е и значително увеличение на мускулната маса, сравнено с контролната група ($p = 0.0001$). (Basha, 2015:263–268)

Напоследък вниманието се фокусира върху промените в хранителния статус след трансплантацията. При тази категория пациенти програмите от упражнения и диетичните съвети трябва внимателно да бъдат преценени. Докато мастната маса се възвръща лесно, мускулната маса е трудно да се възстанови през първата година. (Giusto, 2014:10682)

Литературните данни показват, че програми за редовна физическа активност, могат да предотвратят сърдечно-съдовите усложнения. (van Ginneken, 2007:345–353) Аеробните упражнения и упражненията срещу съпротивление имат положителен ефект при лечение на затлъстяването, саркопенията и дислипидемия след трансплантация на черен дроб. (Basha, 2015: 263–268)

Умора

Наскоро този симптом получи по-голямо внимание, като част от цялостната оценка на качеството на живот, свързана със здравето при пациенти с хронични заболявания. За да се определи количествено умората са разработени нови методи, които се използват все по-често в клинични условия. (van den Berg-Emons, 2006a:928–933; Swain, 2006:181)

Умората е най-често срещания симптом при пациенти с чернодробни заболявания. (Kumar, 2002: 404–407; Milkiewicz, 2004:475–477; Poynard, 2002:295–303; Huet, 2000:760–767). Проспективно проучване въз основа на голяма база данни от 346 възрастни от три трансплантационни центъра в САЩ показва, че преди трансплантацията най-голям брой пациенти стра

дат от умора и мускулна слабост. (Krasnoff, 2006:1896–1905) Етиологията на умората не е изяснена, но експерименталните резултати показват, че при чернодробните заболявания е централно медирана и е резултат от промени в невротрансмисията в мозъка. Това е сложен симптом, който често се пренебрегва от лекарите, които лекуват пациентите с чернодробни заболявания, поради субективния му характер, трудностите при определянето му и липсата на ефективни терапевтични средства. (Swain, 2006:181)

Високите нива на умора се отразяват негативно върху качеството на живот на пациентите с чернодробни заболявания. Интензитета на умората намалява след чернодробната трансплантация, но все пак остава основен проблем. (Aadahl, 2002:251–259; Van den Berg-Emons, 2006a:928–933) 66% от пациентите изпитват умора, а при 44% оплакванията са силно изразени. Рехабилитационните програми могат да бъдат ефективни в намаляването на тежестта на умората след чернодробна трансплантация, но за да се разработят подходящи програми е необходимо да има познания относно естеството на умората, както и факторите които и влияят. (Van den Berg-Emons, 2006a:928–933; van Ginneken, 2009) Възниква и въпроса с какви средства да се въздейства, така, че да се намали тежестта и и да се подобри качеството на живот. Специфични фармакологични терапии не са налични и въпреки сложните механизми на възникване на умората, **поддържането на физическа активност е от първостепенно значение.** (Swain, 2006:181) Сериозните оплаквания от умора при трансплантиран черен дроб са свързани с ниските нива на ежедневната физическа активност. Хипоактивният начин на живот може да доведе до отрицателна спирала: хипоактивност, водеща до намаляване на физическата годност и влошаване на оплаквания от умора, което води до по-нататъшна хипоактивност. (van Ginneken, 2009) Умората има значително влияние върху качеството на живот. (Swain, M. G. 2006:181)

Проучване съобщава, че 36% от хората с хронична умора са депресирани. (Fuller-Thomson, 2008: 414–422.) Връзката между умората и депресията е установена и от други автори. Умората от своя страна е деактивиращо състояние, което намалява качеството на живот и често води до депресия. (Poynard, 2002:295–303, Huet, 2000:760–767)

В заключението си много автори отбелязват, че рехабилитационните програми могат да намалят оплакванията от умора и да доведат до подобряване качеството на живот след трансплантация на черен дроб. (van Ginneken, 2007:345–353; van den Berg-Emons R, 2006a:928–933) Необходимо всички пациенти да се съветва по отношение на поддържането на подходящо ниво на физическа активност. Увеличаването на активността трябва да се осъществява чрез степенувана програма. (Swain, 2006:181)

Периоди на рехабилитация:

Специфичните физиотерапевтични подходи са структурирани в зависимост от състоянието на пациентите във всяка фаза от развитието на заболяването: предоперативна рехабилитация, ранна следоперативна и късна следоперативна рехабилитация (Senduran, M. 2012).

Други автори разделят рехабилитацията на шест периода : предоперативен период, ранен и късен следоперативен период, ранен и късен амбулаторен период и поддържаща двигателната активност рехабилитация. (Rongies, 2005:41–44)

Във всеки период на този дълъг процес трябва да бъдат добре изяснени показанията и противопоказанията за рехабилитационна намеса. Затова преди изготвянето на програма от специализирани процедури във всяка фаза, трябва да се направи оценка на рехабилитационния потенциал, което включва оценка на мускулната сила и издръжливост, аеробния капацитет, ниво на физическа активност, независимостта в ежедневните дейности и свързаното със здравето качество на живот. Съпътстващи могат да бъдат неврологични, метаболитни и заболявания на опорно-двигателния апарат. Нивото на болка и умора също трябва да се съобразят. (Senduran, 2012).

Стартирането на рехабилитационна програма преди трансплантацията несъмнено ще помогне на пациентите да преодолеят постоперативните усложнения както и по-нататъшните последствия от следоперативното обездвижване. Това може да се постигне чрез препоръчване на подходящи стратегии за избягване на продължително залежаване, повишаване нивото на физическа активност в хода на болестта и оптимизиране на независимостта.

Ранната рехабилитация след трансплантацията включва дихателна рехабилитация и начало на мобилизацията. Започва от първия ден след операцията, веднага след като пациентът е хемодинамично стабилизирал и продължава до извеждането му от интензивното отделение. (Rongies, 2005:41–44; Senduran, 2012)

Дихателната рехабилитация е важна част от ранната следоперативна рехабилитация. Намалената подвижност на диафрагмата и гръдния кош, намалените съкратителни възможности на дихателната мускулатура водят до изменения в механиката на дишането. Това от своя страна води до нарушения в газообмена и вентилацията. За да се постигне ефективна белодробна вентилация и да се предпази болният от застойни явления, трябва да се включат всички резерви на организма и специално на дихателната система. (Петровска, 1999:357–364)

Няколко проучвания подкрепят ефикасността на профилактичната дихателна рехабилитация за предотвратяване на белодробните усложнения след коремни операции. Прилагани са дълбоко дишане, дирижирана кашлица и ортостатичен дренаж. (Pasquina, 2006:1887–1899)

Ранната рехабилитация е неразделна част от лечението на пациентите в интензивните отделения, чиято цел е да подобри функционалния капацитет и да възстанови дихателната и физическа независимост. По този начин се намаляват рисковете от усложнения свързани със залежаването. Няма сигурни доказателства за ефектите на използваните специфични техники (пози, похвати, упражнения) и дългосрочните резултати от тях. Препоръчва се допълнително проучване на въздействието им. (Clini, 2005 :1096–1104) Резултатите при проследяването на петдесет пациента след горна коремна операция, получили стандартно предоперативно обучение и физиотерпевтична намеса първия следоперативен ден показват, че **ранната мобилизация има положителен ефект за намаляване продължителността на престоя в интензивното отделение след операцията.** (Browning, 2007:47–52)

Тринадесет пациенти са били включени в изследване за определяне на хемодинамичните ефекти на интензивната рехабилитация. Приложена е следната програма: дихателна рехабилитация, активни съвместни движения в леглото, седеж в леглото (първа задача), седеж на ръба на леглото (втора задача), вертикализация до леглото (трета задача), подготвителни упражнения за ходене (четвърта задача) и ходене (пета задача). Измерени са пулс, систолно и диастолно налягане, сатурация и честота на дишане преди раздвижването, след всяка задача, след приключаване на програмата и на петата минута от възстановяването. Нивото на болка е оценена с Визуалната аналогова скала (0–10). Не е установена значима разлика между стойностите на хемодинамичните показатели преди лечението и на петата минута от възстановяването. Кардиопулмоналните промени причинени от ранната рехабилитация след трансплантация на черен дроб са били във физиологичните граници. (Senduran, 2010:1461–1466)

Основните фактори затрудняващи дихателната рехабилитация и ранната мобилизация са: намалената физическа активност по време на заболяването, относително дългата продължителност на операцията, анестезията и аналгезията, обширната оперативна рана и съпътстващата абдоминална болка. (Rongies, 2005:41–44) Диафрагмалната дисфункция произтичаща от болката поради разреза и дразненето или дори парезата на диафрагмалния нерв в редки случаи, е друг важен фактор в развитието на белодробните усложнения. (Senduran, 2012) Дихателната рехабилитация включва: диафрагмални дихателни техники, кашлични техники, увеличаване разгръщането на белия дроб чрез експираторни техники. (Clini, 2005:1096–1104) Ръчните техники включват гръдни перкусии и вибрации. (Senduran, 2012)

Ранната мобилизацията в интензивното отделение трябва да се прилага постепенно, за да бъде добре толерирана от пациентите след чернодробна трансплантация. (Senduran, 2010:1461–1466) Тези пациенти изискват сериозни медицински грижи и от специалистите по физикална и рехабилитационна медицина трябва да бъдат наясно с потенциалните усложнения и факторите,

които могат да повлияят на раздвижването. В катедрата по физикална медицина и рехабилитация на Университета на Питсбърг, Пенсилвания на 55 пациенти е приложена активна рехабилитационна програма след трансплантация на черен дроб. Направени са изводи, че тези пациенти могат да постигнат значителни „функционални ползи“ от активната рехабилитация. (Cortazzo, 2005:880–884) Литературните данни потвърждават положителните ефекти от ранната рехабилитация. Добре планирана, систематизирана и рано инициирана рехабилитация е важен елемент от постоперативните грижи за пациентите след трансплантация. (Rongies, 2005:41–44.)

Рехабилитация след чернодробна трансплантация продължава и след извеждането на пациентите от интензивния сектор с дихателна рехабилитация, активни и подпомогнати движения, корекция на позата. Прецизно изготвени и индивидуализирани програми в този етап на възстановяване след трансплантация, показват увеличаване на подвижността на горните крайници, мускулната сила и издръжливост на долните крайници и цялостно подобрене в общото състояние на пациентите. (Rongies, 2005:41–44.)

Стационарната рехабилитация трябва да продължи до изписването от болницата. Обучението на пациентите в хигиенно-двигателен режим, който е нужно да спазват особено по време на първите шест седмици, е друга важна част от болничната рехабилитация. **Необходимо е изготвянето на индивидуална програма за всеки пациент, съобразена с неговото състояние, под формата на наръчници, съдържащи илюстрации и инструкции с упражнения, предложения за по-активен начин на живот и подходящ диетичен режим на хранене** (Senduran, 2012).

След изписването от болницата пациентите често изпитват безпокойство и раздразнителност, нарушение на съня, стрес и депресия. Страхът от увреждане на наскоро трансплантирания орган и защитните нагласи могат да доведат до ограничаване на активността. Пациентите трябва да бъдат насърчавани за по-голяма активност от мултидисциплинарен екип, включително лекари, специалисти по физикална и рехабилитационна медицина, диетолози, психолози, социални работници, както и от членовете на семейството. Поддържането на оптимално ниво на физическа активност, чрез продължаване на рехабилитационната програма, ще помогне на пациентите да преодолеят тези симптоми. (Senduran, 2012) В съответствие със сърдечния и белодробния резерв на всеки пациент, в този етап трябва да бъдат планирани аеробните тренировки, включващи ходене, тичане или каране на велосипед. Документирано е положителното повлияване на самочувствието, стойката на тялото и благосъстоянието при пациенти с трансплантация след 8-седмична програма от аеробни упражнения. (Surgit, 2001:3298) Аеробните упражнения ускоряват метаболизма в организма и намаляват мастната маса, докато упражненията срещу съпротивление увеличават мускулната маса. (Paig, 2013:109–113) Предложени са също програми за намаляване на умората, която остава като

един от най-неприятните симптоми дори една година след операцията. Обект на този дълъг процес на рехабилитация е и връщането на работното място, в социалния живот, към дейностите през свободното време и дори към участие в различни видове спортове. (Senduran, 2012)

1. Участие в спортни дейности

Установен е положителния ефект от спортната дейност като помощно средство за физическото, психическото и социалното възстановяване на реципиентите. (Slapak 2004: 46–50)

Участието в спортове трябва да започне не по-рано от 3 месеца след операцията, за да се осигури правилното следоперативно зарастване на раната и стабилизиране на присадката. Да участват в спорт трябва да бъдат посъветвани реципиентите на органи, чието общо здравословно състояние не дава основание за безпокойство. Пациентите след трансплантацията могат да водят почти нормален живот и не трябва да се отказват от физическа активност. Нещо повече, спортът безспорно е много важен елемент в процеса на рехабилитация след трансплантацията и може да допринесе за подобряване на качеството на им живот. (Pupka, 2008: 142–145) Целта е да се постигне оптимална гъвкавост, мускулна сила, издръжливост и висок аеробен капацитет.

Пациентите обикновено имат страх от органна увреда или силна болка и избягват да участват в спортове. **В началото се препоръчват леки дейности като ходене, изкачване на стълби, голф, боулинг, дартс, стрелба с лък и риболов.** Тенис на маса и волейбол могат да бъдат предложени като дейности със средна интензивност. Плуване, лека атлетика, бадминтон, колоездене, гребане, тенис, мини-маратон се препоръчва след привикване с леките и умерени дейности. Плуване в обществени басейни или езера не се препоръчва поради висок риск от инфекции. **Контактните спортове като футбол, баскетбол, конна езда и бънджи скокове не са за предпочитане, тъй като могат да доведат до сериозна травма и увреждане на органите. Съществува и допълнителен риск от фрактури, дължащ се на ниската костна минерална плътност при тези болни.** (Pupka, 2008: 142–145)

Шест пациента с чернодробна трансплантация са избрани да участват в поход до връх Килиманджаро – 5895 m, Танзания. Физическото изпълнение и устойчивостта на голямата надморска височина са проспективно сравнени с петнадесет контролни субекти с подобни профили, съпоставени по възраст и индекс на телесна маса. Заключение е, че подбрани и добре подготвени трансплантирани болни, след 6-месеца аеробни тренировки и хиперкалорична диета включваща захари, протеини и обилна хидратация са в състояние да понесат значителни физически натоварвания и излагането на голяма надморска височина, подобно на здрави индивиди. (Pirenne, 2004 :554–560)

Международният олимпийски комитет е световен организатор на спортни събития за трансплантирани спортисти от повече от 20 години. Световните игри се провеждат през една година с голям успех. Статистиката показва, че в годината на провеждането им в съответната държава, броят на трансплантациите нараства средно с 30%. Оснавената цел на игрите е да покажат на обществеността как донорството и трансплантациите спасяват хиляди човешки животи, да вдъхнат оптимизъм на чакащите в листите за трансплантация, за това че след като бъдат трансплантирани с орган, тези тежко болни пациенти водят нормален живот и дори са способни да достигнат спортни успехи. (Slapak 2004: 46–50) Първите Национални игри за трансплантирани се проведоха у нас през 2009 г. под патронажа на Илияна Раева.

Много известни спортисти се завръщат в професионалния спорт след успешна трансплантация. Между тях са легендарният баскетболист Алонзо Морнинг и хърватският футболен национал Иван Класнич.

Изводите са, че за оптимизиране качеството на живот в дългосрочен план е препоръчително да се насърчават пациентите за участие в спортна дейност три месеца след операцията. (Slapak 2004: 46–50)

Потвърдена е добрата поносимост към постепенно покачващата се интензивност на упражненията и възможността на трансплантираните да постигнат нива на функциониране подобно или дори по-високо от това на нормалните индивиди. Несъмнено редовната физическата активност трябва да се препоръчва и насърчава като част от рутинните грижи при трансплантираните пациенти с цел оптимизиране на цялостното здраве, свързано с качеството на живот. (Painter, P. 2005)

Физическата активност е важна част от антиатеросклеротичната и антиостеопоротичната профилактика. (Purka, 2008:142–145)

Прецизно изготвени рехабилитационни програми могат да помогнат при пациенти с чернодробни заболявания и трансплантирани реципиенти да повишат нивото на физическата си активност и по този начин да подобрят качеството си на живот.

ЛИТЕРАТУРА

- Атанасова, И., Спасов, Л., Терзииванов, Д. (2015) Чернодробни трансплантации и съвременни имunosупресивни лекарства. *Годишник на СУ, том 1*: 9–20
- Петровска, Я. Рехабилитация при белодробните заболявания. – В: Лечение на белодробни заболявания. (1999) *Медицина и физкултура*, С, 357–364.
- Aadahl, M., Hansen, B. A., Kirkegaard, P., & Groenvold, M. (2002). Fatigue and physical function after orthotopic liver transplantation. *Liver Transplantation*, 8(3), 251–259.
- Atamaz, F., Hepguler, S., Karasu, Z., Kilic, M., & Tokat, Y. (2006, June). The prevention of bone fractures after liver transplantation: experience with alendronate treatment. *In Transplantation proceedings* (Vol. 38, No. 5, pp. 1448–1452). Elsevier..

- Basha, M. A., Mowafy, Z. E., & Morsy, E. A. (2015). Sarcopenic obesity and dyslipidemia response to selective exercise program after liver transplantation. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 16(3), 263–268.
- Beyer, N; Aadahl, M; Strange, B; Kirkegaard, P; Hansen, BA; Mohr, T & Kjaer, M. (1999). Improved physical performance after orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl Surg* Vol.5, No. 4 (July):301–309.
- Browning, L; Denehy, L & Scholes, RL.(2007). The quantity of early upright mobilization performed following upper abdominal surgery is low: an observational study. *Aust J Physiother* Vol 53:47–52.
- Clini, E & Ambrosino, N. (2005). Early physiotherapy in the respiratory intensive care unit. *Resp Med* Vol.99:1096–1104.
- Compston, J. E. (2003). Osteoporosis after liver transplantation. *Liver transplantation*, 9(4), 321–330.
- Correia, I. M., Rego, L. O., & Lima, A. S. (2003). Post-liver transplant obesity and diabetes. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 6(4), 457–460.
- Cortazzo, MH; Helkowski, W; Pippin, B; Boninger, ML & Zafonte, R. (2005). Acute inpatient rehabilitation of 55 patients after liver transplantation. *Am J Phys Med Rehabil* Vol.84:880–884.
- Dehghani, S. M., Taghavi, S. A. R., Eshraghian, A., Gholami, S., Imanieh, M. H., Bordbar, M. R., & Malek-Hosseini, S. A. (2007). Hyperlipidemia in Iranian liver transplant recipients: prevalence and risk factors. *Journal of gastroenterology*, 42(9), 769–774.
- Epstein, S. K., Ciubotaru, R. L., Zilberberg, M. D., Kaplan, L. M., Jacoby, C., Freeman, R., & Kaplan, M. M. (1998). Analysis of impaired exercise capacity in patients with cirrhosis. *Digestive diseases and sciences*, 43(8), 1701–1707.
- Ersoz, G & Ersoz, S. (2003). Changes in portal blood flow following acute exercise in liver transplant recipients. *Transpl Proc* Vol.35:1456–1457.
- Fuller-Thomson, E., & Nimigon, J. (2008). Factors associated with depression among individuals with chronic fatigue syndrome: findings from a nationally representative survey. *Family practice*, 25(6), 414–422.
- Giusto, M., Lattanzi, B., Di Gregorio, V., Giannelli, V., Lucidi, C., & Merli, M. (2014). Changes in nutritional status after liver transplantation. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(31), 10682
- Huet, P. M., Deslauriers, J., Tran, A., Faucher, C., & Charbonneau, J. (2000). Impact of fatigue on the quality of life of patients with primary biliary cirrhosis. *The American journal of gastroenterology*, 95(3), 760–767.
- Iscar, M., Montoliu, M. A., Ortega, T., Rodriguez, B., Rodriguez, M., Glez-Pinto, I., & Alonso, P. (2009, April). Functional capacity before and after liver transplantation. *In Transplantation proceedings* (Vol. 41, No. 3, pp. 1014–1015). Elsevier.
- Jones, J. C., Coombes, J. S., & Macdonald, G. A. (2012). Exercise capacity and muscle strength in patients with cirrhosis. *Liver transplantation*, 18(2), 146–151.
- Kirchner, Gabriele I., et al. “Outcome and quality of life in patients with polycystic liver disease after liver or combined liver-kidney transplantation.” *Liver transplantation* 12.8 (2006): 1268–1277.
- Kjaer, M., Beyer, N., & Secher, N. H. (1999). Exercise and organ transplantation. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 9(1), 1–14.

- Krasnoff, JB; Vintro, AQ; Ascher, NL; Bass, NM; Paul, SM; Dodd, MJ & Painter, PL. (2006). A randomized trial of exercise and dietary counseling after liver transplantation. *Am J of Transpl* Vol.6:1896–1905.
- Kulak, C. A., Borba, V. Z., Kulak Júnior, J., & Custódio, M. R. (2014). Bone disease after transplantation: osteoporosis and fractures risk. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 58(5), 484–492.
- Kumar, D., & Tandon, R. K. (2002). Fatigue in cholestatic liver disease—a perplexing symptom. *Postgraduate medical journal*, 78(921), 404–407.
- Milkiewicz, P., & Heathcote, E. J. (2004). Fatigue in chronic cholestasis. *Gut*, 53(4), 475–477.
- Ninkovic, M., Skingle, S. J., Bearcroft, P. W., Bishop, N., Alexander, G. J., & Compston, J. E. (2000). Incidence of vertebral fractures in the first three months after orthotopic liver transplantation. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 12(8), 931–935.
- Lemzye, M; Dharancy, S; Neviere, R; Pruvot, FR; Declerck, N & Wallaert, B. (2010). Aerobic capacity in patients with chronic liver disease: Very modest effect of liver transplantation. *Presse Med* Vol.39:174–181.
- Orr, J. G., Homer, T., Ternent, L., Newton, J., McNeil, C. J., Hudson, M., & Jones, D. E. (2014). Health related quality of life in people with advanced chronic liver disease. *Journal of hepatology*, 61(5), 1158–1165.
- Painter, P. (2005). Exercise following organ transplantation: a critical part of the routine post transplant care. *Annals of Transplantation*, 10(4), 29.
- Parr, E. B., Coffey, V. G., & Hawley, J. A. (2013). ‘Sarcobesity’: a metabolic conundrum. *Maturitas*, 74(2), 109–113
- Pasquina, P., Tramèr, M. R., Granier, J. M., & Walder, B. (2006). Respiratory physiotherapy to prevent pulmonary complications after abdominal surgery: a systematic review. *CHEST Journal*, 130(6), 1887–1899.
- Pieber, K; Crevenna, R; Nuhr, MJ; Quittan, M; Peck-Radosavljevic, M; Fialka-Moser, V & Wiesinger, GF. (2006). Aerobic capacity, muscle strength and health-related quality of life before and after orthotopic liver transplantation: Preliminary data of an Austrian transplantation centre. *J Rehabil Med* Vol.38:322–328.
- Pirenne, J; Gelder, VF; Kharkevitch, T; Nevens, F; Verslype, C; Peetermans, WE; Kitade, H; Vanhees, L; Devos, Y; Hauser, M; Hamoir, E; Noizat-Pirenne, F & Pirotte, B. (2004). Tolerance of liver transplant patients to strenuous physical activity in high-altitude. *Am J Transpl* Vol.4:554–560.
- Poynard T, Cacoub P, Ratziu V, et al. Fatigue in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2002;9:295–303.
- Pupka, A; Płonek, T; Lewicki, K & Maroszyk, J. (2008). Influence of physical activity on the health condition of people after organ transplantation. *Med Sport* Vol.12, No.4:142–145.
- Rongies, W; Stepniewska, S; Perzynska, EP; Dolecki, W; Wojtaszek, M; Oldakowska-Jedynak, U; Pawlak, J & Krawczyk, M. (2005). Rehabilitation principles in patients after orthotopic liver transplantation. *E&C Hepatology* Vol.1, No.1:41–44.
- Schütz T, Hudjetz H, Roske AE, Katzorke C, Kreymann G, Budde K, Fritsche L, Neumayer HH, Lochs H, Plauth M Weight gain in long-term survivors of kidney or liver transplantation—another paradigm of sarcopenic obesity? 2012 Apr;28(4):378–383. doi: 10.1016/j.nut.2011.07.019. *Epub* 2012 Feb 2.

- Senduran, M., Yurdalan, S. U., Karadibak, D., & Gunerli, A. (2010). Haemodynamic effects of physiotherapy programme in intensive care unit after liver transplantation. *Disability and rehabilitation*, 32(17), 1461–1466.
- Senduran, M. & Yurdalan, U. (2012). Physiotherapy in Liver Transplantation, *Liver Transplantation – Technical Issues and Complications*, Prof. Hesham Abdeldayem (Ed.), *InTech*.
- Slapak M. The effect of The Word Transplant Games on transplant rates in five continents. *Ann Transplant* 2004; 9(1): 46–50.
- Stephenson, A. L., Yoshida, E. M., Abboud, R. T., Fradet, G., & Levy, R. D. (2001). Impaired exercise performance after successful liver transplantation. *Transplantation*, 72(6), 1161–1164.
- Surgit, O; Ersoz, G; Gursel, Y & Ersoz, S. (2001). Effects of exercise training on specific immune parameters in transplant recipients. *Transpl Proc* Vol.33:3298.
- Swain, M. G. (2006). Fatigue in liver disease: pathophysiology and clinical management. *Canadian journal of gastroenterology*, 20(3), 181.
- Younossi, Z. M., Boparai, N., Price, L. L., Kiwi, M. L., McCormick, M., & Guyatt, G. (2001). Health-related quality of life in chronic liver disease: the impact of type and severity of disease. *The American journal of gastroenterology*, 96(7), 2199–2205.
- Van den Berg-Emons R, van Ginneken B, Wijffels M, Tilanus H, Metselaar H, Stam H, Kazemier G (2006a) Fatigue is a major problem after liver transplantation. *Liver Transpl* 12:928–933
- Van Ginneken, B. T., van den Berg-Emons, R. J., Kazemier, G., Metselaar, H. J., Tilanus, H. W., & Stam, H. J. (2007). Physical fitness, fatigue, and quality of life after liver transplantation. *European journal of applied physiology*, 100(3), 345–353.
- Van Ginneken, B. (2009). *Fatigue after Liver Transplantation*. Erasmus University Rotterdam.
- Vintro, AQ; Krasnoff, JB & Painter, P. (2002). Roles of nutrition and physical activity in musculoskeletal complications before and after liver transplantation. *AACN Clin Issues* Vol.13, No.2:333–347.
- Wiesinger, GF; Quittan, M; Zimmermann, K; Nuhr, M; Wichlas, M; Bodingbauer, M; Asari, R; Berlakovich, G; Crevenna, R; Fialka-Moser, V & Peck-Radosavljevic, M. (2001). Physical performance and health-related quality of life in men on a liver transplantation waiting list. *J Rehabil Med* Vol.33:260–265.

Дата на постъпване: 28.02.2016 г.

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

ПНЕВМОКОКОВИ ИМУНИЗАЦИИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ИМУНЕН ДЕФИЦИТ

ГАЛИНА ЖЕЛЕЗОВА ЖЕЛЕЗОВА *

Катедра „Биология, медицинска генетика и микробиология“
Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

Пациентите с имунен дефицит са с повишен риск от пневмококови заболявания. При тях имунизация с пневмококови ваксини се препоръчва като важна стратегия за намаляване на риска от локални и системни инфекции. Обзорът представя настоящото състояние от развитието на пневмококовите ваксини, тяхната имуногенност и практическо приложение. Той представя също основните практики и проблеми при имунизация с пневмококови ваксини на HIV инфектирани лица, аспленични индивиди, пациенти с трансплантация на стволови клетки и пациенти с трансплантация на солидни органи.

Ключови думи: пневмококови ваксини, пациенти с имунодефицит

Galina Zhelezova. PNEUMOCOCCAL IMMUNIZATION OF PATIENTS WITH IMMUNODEFICIENCY

Immunocompromised individuals are at an increased risk of pneumococcal diseases. Vaccination is recommended to them as an important strategy to reduce the risk of pneumococcal local and systemic infections. This review evaluated the current status of pneumococcal vaccines development, immunogenicity and practical application. It presents also the major practices and problems in immunization with pneumococcal vaccines of HIV infected patients, asplenic individuals, stem cells transplanted patients and patients with solid organ transplantation

Key words: pneumococcal vaccines, immunodeficient patients

* *За контакти:* Доц. д-р Галина Железова Железова, дмСофия, УБ „Лозенец“, ул. „Козяк“ 1, e-mail: gzhelezova@gmail.com Тел. 0889 60 33 30

УВОД

Streptococcus pneumoniae е един от най-честите причинители на инфекции в света. Пневмококовите заболявания са разнообразни, като някои от тях са свързани с тежки инвазивни инфекции и високо ниво на смъртност. Най-често засегнатите са децата и възрастните хора над 65 год. Независимо от възрастта, всички лица с имунокомпрометиран статус и такива със съпътстващи хронични заболявания като диабет, сърдечна, бъбречна, белодробна недостатъчност и др. имат висок риск от развитие на пневмококови заболявания. Резервоар за пневмококите е назофаринксът, където бактериите съществуват под форма на асимптоматично носителство. От там те могат да преминат към други анатомични зони, предизвиквайки локални или системни инфекции.

S. pneumoniae образува капсули, които са с полизахариден състав, блокират фагоцитозата и се определят като основен фактор на вирулентност. Те имат различен антигенен състав, според който са обособени в повече от 90 различни серотипа. Протекция срещу пневмококовите инфекции се осигурява главно от хуморалният имунен отговор, представен от серумни антитела от клас IgG, насочени срещу серотип-специфичните капсулни антигени на *S. pneumoniae*. При недостатъчно количество серумни антикапсулни антитела или снижен брой левкоцити, фагоцитозата не може да осъществи своята защитна функция и настъпва бактериемия с евентуално последващи пневмония, менингит или сепсис.

Съществуващите пневмококови ваксини стимулират хуморален серотип-специфичен антикапсулен имунен отговор. Те претърпяват динамично развитие и днес осигуряват значителна протекция както при деца, така и при възрастни.

ПНЕВМОКОКОВИ ВАКСИНИ

Основен компонент на наличните лицензирани ваксини за употреба към настоящия момент са капсулните полизахаридни антигени на *S. pneumoniae*, тъй като те имат качества на протективни антигени (стимулираните от тях серумни антитела осигуряват защита срещу инфекция). Различните ваксини съдържат различен брой антигени от различните серотипове. Големият брой капсулни серотипове (повече от 90) при *S. pneumoniae* прави невъзможно включването на всички в една ваксина. Избрани са само тези, които са най-чести причинители на заболявания. Според своята конструкция и състав, съществуват два основни типа пневмококови ваксини – полизахаридни и полизахаридни, конюгирани с протеин.

Пневмококова полизахаридна ваксина (PPSV23)

Пневмококовата полизахаридна ваксина (PPSV23) е лицензирана за употреба от 1983г. Тя съдържа пречистени капсулни полизахарид от 23 пневмококови серотипа (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7 F, 8, 9 N, 9 V, 10A, 11A, 12 F, 14, 15B, 17 F, 18 C, 19A, 19 F, 20, 22 F, 23 F, и 33 F), които са подбрани измежду най-честите причинители на инвазивни заболявания при възрастни лица. Производителите на тази ваксина предлагат под две търговски имена – Pneumovax 23 (Merck) и Pneumo 23 (Sanofi Pasteur), като и двете са налични за употреба в Европа. Ваксината сепрепоръчва днес в редица страни за имунизация на високо рискови групи в широк възрастов диапазон над 2 год., включително и за възрастни над 65 год.

Профилактиката на инвазивните инфекции при възрастни с тази ваксина е безспорна, но нейната роля относно превенцията на пневмонии и смъртност сред възрастното население не е абсолютно категорична [Huss 2009:48–58]. Препоръчвана е за имунизация на всички възрастови групи над 2 год. с повишен риск от развитие на пневмококови инфекции (всички лица над 65 год, както и при различните категории високо рискови пациенти от 2 до 64 год. с имунодефицити от различен характер или поради съпътстващи хронични заболявания [Rebody 2005:174–8]. След прилагане на една доза от полизахаридната ваксина, титърът на антикапсулните антитела нараства значително в рамките на една година, след което постепенно спада и в интервал от 4 до 7 години достига изходните си нива [Torling 2003:96–103]. Тъй като това са полизахаридни антигени, които не стимулират имунологична памет, след реимунизация не могат да се очакват по-високи имунни отговори в сравнение с първата доза. Поради тази причина, ако се налага реваксинация със същата ваксина, то тя се препоръчва да бъде след един по-продължителен интервал, обикновено след 5 или повече години. Само при определени категории пациенти с много висока степен на риск от пневмококови инфекции могат да се препоръчат повече от една реимунизации при спазване на съответните продължителни интервали между отделните дози.

Пневмококови конюгирани ваксини

Пневмококовите конюгирани ваксини са нова и успешна стратегия за профилактика. Всички те са изградени на един принцип – пречистени полизахаридни капсулни антигени, конюгирани с протеини. Различията между тях се определят от броя на включените серотипове, конюгирани към един или няколко различни протеинови носителя. Комбинацията протеин – полизахариди позволява стимулация на ефективен имунен отговор с наличие на имунна памет. Най-голямото им предимство е стимулация на протективен имунен отговор и при деца под 2 год. Налице е изключително динамично развитие на този тип ваксини, като най-характерна особеност е увеличаване на броя на

включените в тях серотипове от 7 до 13. Серотиповете 4, 6В, 9V, 14, 18С, 19F и 23F са основни и общи за всички варианти, разработени до момента и към тях се включват допълнително и други. Според броя на включените антигени, -ваксините са PCV-7, PCV-10, PCV-13. В България от 2010 год. за имунизация на деца се прилага PCV-10.

Основание за създаване на тези ваксини елипсата на имуногенност на пневмококовата полизахаридна ваксина при възрастта под 2 години, която е в най-висока степен рискова за развитие на инвазивни инфекции. Включването на нови допълнителни серотипове се налага от феномена „изместване на серотиповете“ – в резултат от приложение на ваксината, едни серотипове изчезват, но на тяхното място се появяват нови. Днес PCV-10 и PCV-13 са ваксините, използвани в педиатрията за профилактика на пневмококови инфекции.

Имунизацията на възрастни лица търпи съществено развитие през последните няколко години. Разширява се спектърът на приложение на конюгираните пневмококови ваксини – предимно PCV13 или комбинация между PCV13 и PPSV23. Ефикасността на този тип имунизация е обект на активно проучване. Резултати от различни проучвания при имунизация на възрастни, сравняващи двете категории ваксини – полизахаридна и конюгирана, установяват, че конюгираните ваксини са равностойни като имуногенност на PPSV23 по отношение на общите включени в тях серотипове [Jackson 2013:31:3577].

Продължават да се публикуват нови данни, потвърждаващи ефикасността на PCV-13, което дава основание за разширяване на спектъра на нейното приложение във възрастов аспект и по отношение на възрастови групи със специфичен риск (имунокомпрометирани или лица с придружаващи коморбидни състояния). От 2014 год., PCV13 започва да се препоръчва за всички възрастни над 65 год. с индикация за превенция на инвазивна пневмококова болест и пневмония, придобита в обществото, както в Европа, така и в САЩ. PCV13 не се препоръчва за здрави възрастни под 65 год., които нямат специфичен риск за пневмококови инфекции. Препоръчва се също, комбинирана двойна имунизация PCV13/PPSV23, като интервалът между двете дози за възрастни над 65 год. е една година [Durando 2015:172–7]. Целта на този тип имунизация е да се постигне по-добър и по-продължителен имуногенен отговор. Конюгираната ваксина се прилага първа заради способността и да индуцира имунна памет, а след това в подходящ интервал от време се прилага полизахаридната ваксина, която има по-широк спектър на покритие по отношение на включените в нея 23 серотипа. Последователността, кратността и интервалите между прилагането на двата типа пневмококови ваксини са съобразени с това, да се избегне развитието на супресия на имунния отговор, което е възможно при повторно или многократно въвеждане на полизахаридни антигени.

В заключение може да се каже, че препоръките за пневмококова имунизация при възрастни вариат доста между различните европейски страни по

отношение на възраст, рискови групи за имунизация, вид използвана конюгирана ваксина и др. PPSV23 е утвърдена като ваксина в страните от Западна Европа, но много държави вече включват и PCV13 в техните имунизационни препоръки за възрастни и определени групи деца със специални рискови характеристики, самостоятелно или в комбинация с PPSV23 [Castiglia 2014: 1011–1044]. Днес на разположение за имунизация на възрастни са две ваксини, с възможност и за комбинация между тях. PPSV23 е с по-широк спектър на ваксинално покритие, но несигурна относно пневмонията, придобити в обществото, а PCV13 е с по-малко серотипове, но осигуряваща по-ефективна протекция.

Имунизация на пациенти с имунодефицити

Пневмококовата имунизация на пациенти с имунодефицити е изключително необходима, тъй като всички категории в тази група са с по-висок риск за развитие на тежки, много често системни инфекции. В същото време ефекта на имунизацията при тези лица не винаги е задоволителен, поради супресирания статус на имунната система. Пневмококовите ваксини, които се използват за профилактика са от двете основни категории – полизахаридни или конюгирани. Днес те се препоръчват за употреба както самостоятелно, така и в комбинация от последователно приложение по схема първа доза конюгирана ваксина, последвана от втора доза полизахаридна ваксина. Резултатите от използване на полизахаридната ваксина при различните категории пациенти много често са противоречиви, а тези от имунизация с конюгирани ваксини са относително малко на брой. Високорисковите групи, нуждаещи се от имунизация са много категории, като най-голям брой проучвания има при лицата, заразени с вируса на СПИН.

Имунизация при пациенти с HIV инфекция

Пневмококовата имунизация е показана за приложение при инфектирани с HIV деца, възрастни и бременни жени. Счита се, че ранните етапи от развитието на HIV инфекцията са най-подходящи за това, но имунизацията може да се извърши и в по-късен момент, стига имунният статус на пациента да отговаря на определени минимални критерии. Необходимостта от пневмококова имунизация се определя от факта, че инфектираните с HIV са в изключително висок риск от развитие на чести и тежко протичащи пневмококови инфекции. Тяхната честота се определя около 100 пъти по-висока в сравнение с тази, наблюдавана в общата популация [Thornhill 2015:3159–60].

Ефектът от пневмококова имунизация при инфектираните лица без провеждана антиретровирусна терапия е доста проблематичен. Сnižението на CD4+ клетките, което е основна характеристика на имунния дефицит при тези

пациенти, води и до дисфункция на В клетките. При болните с HIV инфекция е установено снижение на IgM+памятовите клетки, което се последва от намалени нива на IgM и в следствие и намалено превключване към синтез на IgG и IgA. Тези специфични IgM паметови В клетки са критичен клетъчен подклас, доказано необходим за протекция срещу пневмококови инфекции и тяхното снижение в хода на HIV инфекцията води до намален имуен отговор към ваксини [Sharma 2012:1225–9].

Днес, на фона на провежданата антиретровирусна терапия, позитивният ефект от провежданата пневмококова имунизация е значително по-добре проявен. Проучване установява ниска концентрация на общия брой В клетки и изчерпване на паметовите В клетки при болни, инфектирани с HIV, което определя слаб имуен отговор след имунизация с полизахаридната ваксина PPSV23. Независимо от това, тези пациенти, които са приемали високоактивна антиретровирусна терапия показват по-малко промени по отношение на В клетките в сравнение с групата без такава терапия [Tsachouridou 2015:24–31]. Редица други фактори влизат в съображение при провеждане на успешна имунизация. Отчита се абсолютния брой или процента на CD4+ лимфоцитите (обикновено се изисква да са над 200 кл/мл), степента на изразеност на вирусния товар и др.

Активирането на CD4+ лимфоцитите и макрофагите в отговор на имунизация може да предизвика усилване на HIV репликацията. Транзиторно покачване на HIV плазмената вирусемия се наблюдава след прилагането на пневмококови полизахаридни ваксини, но се счита, че при HIV-инфектирани пациенти, приемащи антиретровирусна терапия, временното повишаване на вирусемията не е от клинично значение и не е противопоказание за прилагането на ваксини [Landrum 2008:85–93].

Една от най-използваните ваксини при лица с вируса на HIV е полизахаридната ваксина. Резултатите от нейните ефекти са доста противоречиви. Така например проучване в Уганда при лица инфектирани с HIV, я определя като неефективна в превенцията на инвазивните пневмококови инфекции [French 2010:812].

Интересни резултати представя ново проучване на Leggat DJ et al. при което новодиагностицирани HIV-позитивни лица, разпределени в две групи според брой Т лимфоцити ($CD4 > 200$ кл/ μ l и $CD4 < 200$ кл/ μ l) са имунизирани с PPV23. Оценявайки титрите на специфични антитела и тяхната функционална активност, авторите установяват, че независимо от броя CD4+ клетки, новодиагностицираните лица показват повишение на титрите на антителата и функционалната им активност, съизмерими с протекция. Практическият извод, който те правят е, че имунизацията с 23-валентната пневмококова ваксина е ефективна при новодиагностицирани пациенти, независимо от по-ниския брой Т лимфоцити и не бива да се отлага във времето [Leggat 2015:419]. Реимунизацията на двете групи пациенти с PPV23, пет години по-късно, води

до сравними титри на антитела и сравнимо нарастване на специфчни IgM паметови В клетки, показвайки ползата от тази имунизация [Iyer 2015: 421].

Конюгираните ваксини стимулират добър имунен отговор и приложението на PCV7, последвано от ваксинация с PPSV23 се отчита като успешна комбинация, водеща до повишаване на антитяловия отговор при HIV-инфектирани възрастни лица.

Поради по-широкия си спектър от серотипове, PCV13 днес е препоръчваната конюгирана ваксина за имунизация. Резултатите от клинични проучвания подкрепят нейното използването поради безопасност и образуване на достатъчно количество антикапсулни IgG серумни антитела с изразена функционална активност [Glesby 2015 :18–27].

Пневмококовите конюгираните ваксини се определят като по-имуногенни в сравнение с PPV23 и с доказана ефективност за защита срещу пневмококови инфекции при HIV-инфектирани деца, юноши и възрастни. Препоръките за такава имунизация, ревизирани през последните години са една доза 13-валентна пневмококва конюгирана ваксина (PCV13), последвана от бустерна ваксинация с PPV23 при възрастни [Lee 2014:3700–10]. При HIV-инфектираните деца, конюгираните ваксини също са доказали своята ефективност, макар че сравнена с тази при неинфектираните, тя е по-ниска [Bliss 2008: 67–80].

Ваксината PCV13 проявява положителен ефект и по отношение на бактериалната колонизация, която е важен етап от патогенезата на пневмококовите инфекции. Така например, проведена ваксинация с PCV13 при HIV-инфектирани деца в Южна Африка показва редуция на колонизацията на съответните ваксинални пневмококови серотипове, включително и при техните HIV-инфектирани майки, неимунизирани с ваксината [Nzenze 2015:1082–92].

Децата с перинатална HIV инфекция имат повишен риск от пневмококови инфекции, въпреки провежданата високоактивната ретровирусна терапия. Първите данни относно ефекта на PCV13 при деца с HIV-перинатална инфекция, приемащи високоактивна антиретровирусна терапия показват силен имунен отговор към повечето, но не към всички серотипове, включени във ваксината [Vamford 2014:2033–43].

Ефикасността на пневмококовите ваксини при HIV-инфектираните лица е обект на дискусия от много години относно това кои точно ваксини, в какви интервали и какви комбинации са най-подходящи за постигане на ефективна защита [Pedersen 2011:323]. Оптималната ваксинална политика по отношение на тази група пациенти не е достатъчно изяснена. Много въпроси относно ефективността на двете основни категории ваксини предстои да бъдат изяснени в контекста на клиничните особености на СПИН [Zhang 2015:4430–6]. Подробна информация относно имунизационната практика в България при лица, инфектирани с HIV е представена от С. Попова [Попова 2014]

Имунизация при пациенти с нарушена функция на слезката или аспления

Слезката е орган, който осигурява защита срещу навлизане на бактериите в системната циркулация, катонейните синусоиди филтрират кръвта. Преминавайки през множеството капиляри, кръвта забавя своята скорост, а моноклеарните фагоцити, локализирани в капилярната мрежа имат възможност да фагоцитират увредени еритроцити и бактерии, отстранявайки ги от циркулацията. Освен това, слезката е един от големите лимфоиди органи и съдържа около половината от всички имуноглобулин-продуциращи В лимфоцити. По тази причина, тя не само отстранява бактериите от циркулацията, но участва и в антигенната презентация и стимулация на специфичния имунен отговор.

Аспленията бива анатомична (вродена или посттравматична) или функционална (напр. при сърповидно-клетъчна анемия). Пациентите и от двете категории са застрашени от развитие на инфекции, предизвикани от бактерии с капсули и разпространяващи се по кръвен път, като рискът от пневмококови инфекции при неваксинираните се движи между 1 и 9%. Тежки инвазивни пневмококови инфекции са възможни обикновено 1 до 2 години след спленектомията, но понякога и след 15 год, като леталитатът в тези случаи е много висок [Schutze 2002: 278–282]. Експертите препоръчват спленектомираните лица да бъдат ваксинирани срещу бактерии притежаващи капсули, каквито са *S. pneumoniae* и *H. influenzae* и бцел намаляване на риска от развитие на сепсис.

S. pneumoniae е най-честият причинител на системни инфекции при лица с аспления или функционални нарушения на слезката и имунизацията с пневмококови ваксини е необходима, макар че понякога може да бъде недостатъчно ефективна. При тези пациенти популацията от IgM паметови В клетки е липсваща и това корелира с увреден имунен отговор към капсулни бактерии. Доказана е предиспозиция за пневмококови инфекции при деца от 0–2 год. поради липса на циркулиращи IgM паметови В клетки и серумни антиполизахаридни антитела от клас IgM [Kruetzmann 2003:939–45]. Поради тази причина имунизацията при аспленични деца под 2 год. се провежда по общата педиатрична имунизационна схема с конюгирани ваксини, след което се прилага и една доза PPSV23 с цел разширяване на серотипния спектър.

Реваксинациите с PPSV23 с повече от една доза са проблематични, тъй като при често прилагане, полизахаридните антигени могат да супресират имунния отговор, вместо да го стимулират. По тази причина за пациенти с аспления или функционални нарушения на слезката се препоръчва само една доза реваксинация, пет години след първата доза. Единствено при особено рискови аспленични пациенти, някои автори предлагат многократна реимунизация с PPSV23 през 6–7 години [MacIntyre 2010:894].

Имунизация при пациенти с трансплантация на хематопоетични стволови клетки

Пациентите с трансплантация на хематопоетични стволови клетки са особено застрашени от развитие на инфекции, причинени от *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* тип *b*, морбили, варицела, грип и др., поради което прилагането на съответните ваксини при тях е приоритет. *S. pneumoniae* е един от най-честите причинители на инфекции, с риск за тяхното развитие около 20–30 пъти по-висок в сравнение с общата популация [Torda 2014:751–9]. Той е по-висок при алогенна трансплантация и най-висок при пациентите, развили хронична реакция на трансплантата срещу реципиента. При този тип трансплантирани болни, niskият брой на В и Т лимфоцити в следоперативния период персистира продължително и се възстановява бавно в рамките на една-две години, а въвеждането на ваксини се практикува обикновено от 6 до 12 месеца след трансплантацията. Опитът показва, че предварителна имунизация на донора подобрява отговора на реципиента към пневмококова имунизация в посттрансплантационния период, но такава не се практикува широко, поради затруднения в нейната реализация. Пациентът се подлага на серологично изследване преди трансплантацията и имунизация се провежда само ако е серонегативен.

Конюгираните пневмококови ваксини са предпочитани при имунизация за следтрансплантационния период, тъй като стимулират по-ефективен имуноен отговор в сравнение с PPSV23, но техният спектър от серотипове е по-малък в сравнение с този на полизахаридната ваксина. Обикновено се практикува имунизация с три дози конюгирана ваксина, последвана от четвърта доза PPSV23, разширявайки по този начин спектъра на серотипно покритие [Ljungman 2009:521–526]. Голямата част от имунизациите при тези болни са провеждани със седемвалентната конюгирана ваксина (PCV7). Препоръчваната в миналото имунизация с 23-валентна ваксина в тези случаи има недостатъчен ефект [D’Orsogna 2009:795–803].

След успешното приложение на 7-валентната ваксина при трансплантирани пациенти, към настоящия момент вниманието е насочено към използване на по-широкоспектърната 13-валентна ваксина. Първото проучване, целящо да установи нейната имуногенност и безопасност при пациенти с алогенна костномозъчна трансплантация е проведено в 37 центъра на Европа, Канада и САЩ за период 2010–2013 г. [Cordonnier 2015:313–23]. То установява, че приложените 3 дози PCV13, 3 до 6 месеца след алогенна трансплантация при деца и при възрастни, водят до значително повишение на антителата към всички включени серотипове, последвано от техния спад след 6 месеца и отново значително нарастване след приложена четвърта доза. При малка част от пациентите са наблюдавани локални и системни реакции, предимно след четвъртата доза. Според авторите на това проучване е необходим тридозов ре-

жим PCV13, последван от реимунизация със същата ваксина, въпреки че четвъртата доза се асоциира с повишаване на локална и системна реактивност.

Имунизация при трансплантация на солидни органи

В периода преди трансплантация, серологичното изследване на пациентите за преценка на налични антитела е рутинна практика в повечето центрове за трансплантация. Подходящо е кандидатите за органна трансплантация, при които серологията е негативна да се ваксинират преди трансплантацията, защото след нея те са подложени на имunosупресивна терапия. Най-висок е рискът от инфекции в първите 3 до 6 месеца след операцията, което съответства и на високите дози имunosупресивна терапия. По тази причина ваксини се прилагат обикновено когато се постигне стабилно ниво на поддържащата имunosупресия. Провеждането на съответните ваксинации е в съгласие с протоколите и опита на отделните трансплантационни центрове. При трансплантация на солидни органи рискът от пневмококови и други инфекции произтича основно от прилаганата имunosупресивна терапия. При тези пациенти резултатите от имунизация не винаги са добри, тъй като са възможни по-кратки или по-слаби имунни отговори в сравнение със здрави лица [Blumberg2001:307–310]. Тъй като могат да развият тежки пневмококови инфекции, ваксиниране се препоръчва при сърдечни, бъбречни и чернодробни трансплантации чрез наличните 23-валентна полизахаридна ваксина или чрез конюгираните ваксини, като данните за употреба на конюгираните ваксини при възрастни с трансплантация на органи са много малко на брой.

При възрастни с бъбречни трансплантации се наблюдава повишение на антителата и тяхната функционална активност след имунизация с пневмококова полизахаридна ваксина, които спадат бързо във времето [Kazancioğlu 2000:61–65].

Друго рандомизирано проучване при възрастни с бъбречна трансплантация установява сравним ефект по отношение на конюгирана и полизахаридна ваксина [Kumar2003:1639–1645].

При деца със сърдечни, чернодробни, белодробни и бъбречни трансплантации е изпробван ефект на комбинирана имунизация за оценка на безопасност и имуногенност. Прилагана е имунизация с PCV7, три дози, през осемседмични интервала, след което е приложена една бустерна доза от 23-валентна ваксина. Авторите на проучването определят конюгираната ваксина PCV7 като безопасна и имуногенна при изброените трансплантации на солидни органи при деца, а PPSV23, като допълнителен позитивен стимул при сърдечни и белодробни трансплантации [Barton 2009:688–92].

Две различни проучвания от последните години представят еднопосочни резултати относно комбинирана имунизация при възрастни пациенти с чернодробни или бъбречни трансплантации [Kumar 2008:885–92; Tobudic

2012:e46133]. Авторите правят опит да постигнат по-добър имунен отговор чрез прилагане на стратегията праймер – бустер, като използват две различни ваксини. Основна имунизация с конюгирана ваксина PCV7, последвана от реимунизация с полизахаридна ваксина PPV23 не показва по-добър краен резултат в стимулацията на имунен отговор в сравнение със стандартната имунизация само с една доза полизахаридна ваксина PPV23. Авторите и на двете проучвания правят един и същи извод:имуногенността на пневмококовата ваксинация не се повишава от стратегията праймер-бустер в сравнение с ваксинация само с полизахаридна ваксина. По тази причина те продължават да се придържат към стандартната схема на еднократна имунизация с PPSV23 при чернодробни и бъбречни трансплантации при възрастни.

В заключение може да се каже, че пневмококовата имунизация при пациенти с органна трансплантация се оценява като важна част от претрансплантационната оценка и продължителната грижа за пациента след трансплантация. Въпреки това, общото мнение на специалистите е, че пневмококовата имунизация не достига желаното ниво в тази област [Struijk 2015:192–200]. Определено липсват достатъчен брой рандомизирани контролирани проучвания за повечето от новите лицензирани ваксини при трансплантираните пациенти. Необходими са допълнителни проучвания за определяне на индикациите и оптималните срокове на новите имунизации и имунизационни стратегии [Avery 2008:9–14].

ЛИТЕРАТУРА

- Попова, С. *Ваксиниране на хив-серопозитивните деца и възрастни в България, 2014.*
<http://www.aidsbg.info/attachment/news/330/Vaccinations%202014.pdf>
- Avery, R.K., M. Michaels. *Am J Transplant.*, 2008, **8**, 9–14.
- Bamford, A., P. Kelleher, H. Lyall, et al. *AIDS*. 2014, **28**, 14, 2033–43.
- Barton, M., S. Wasfy, A. Dipchand, et al. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2009, **28**, 688–92.
- Bliss, S.J., K. L. O'Brien, E.N. Janoff. *Lancet Infect. Dis.*, 2008, **8**, 67–80.
- Blumberg, E. A., S.C. Brozena, P. Stutman et al. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, **32**, 307–310.
- Castiglia, P. *Adv. Ther.* 2014, **31**, 1011–44.
- Cordonnier, C, P. Jungman, C. Juergens et al. *Clin Infect Dis.*, 2015, **61**, 313–23.
- D'Orsogna, L. J., M.P. Wright. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009, **15**, 795–803.
- Durando, P. R. Rosselli, I. Cremonesi et al. *Hum Vaccin Immunother.*, 2015, **11**, 172–7.
- French, N., S. B. Gordon, T. Mwalukomo et al. *N Engl J Med*, 2010, **362**, 812.
- Glesby, M. J., W. Watson, C. Brinson et al. *J Infect Dis.*, 2015, **212**, 18–27.
- Huss, A., P. Scott, A.E. Stuck et al. *CMAJ*, 2009, **180**, 48–58.
- Iyer, A. S., D. J. Leggat, J. A. Ohtola et al. *J AIDS Clin Res.*, 2015, **6**, 421.
- Jackson, L. A., A. Gurtman, M. van Cleeff, et al. *Vaccine*, 2013, **31**, 3577.
- Kazancioglu, R., M. S. Sever, D. Yuksel-Onel et al.: *Clin Transplant.*, 2000, **14**, 61–65.
- Kruetzmann, S., M. M. Rosado, H. Weber et al. *J Exp Med.*, 2003, **197**, 939–45.

- Kumar, D., M.H.Chen, G.Wong, et al. *ClinInfectDis.*, 2008,**47**, 885–92.
- Kumar, D., C.Rotstein, G.Miyata, et al. *J Infect Dis.*, 2003, **187**,1639–1645.
- Landrum, M L.; M J. Dolan.*Infectious Diseases in Clinical Practice*, 2008,**16**, 85–93.
- Lee, K.Y., M. S.Tsai , K.C.Kuoet al. *HumVaccinImmunother.*, 2014, **10**, 3700–10.
- Leggat, D. J., A.S.Iyer, J.A.Ohtolaet al. *J AIDS ClinRes.*, 2015,**6**, 419.
- Ljungman,P., C. Cordonnier. *Bone Marrow Transplantation*, 2009, **44**, 521–526.
- MacIntyre, C.R., T. Egerton, M. McCaughey et al. *Hum Vaccin*, 2010,**6**, 894.
- Musher, D.M., S.B. Manof, C.Liss et al. *J Infect Dis.*, 2010, **201**, 516–524.
- Nzenze, SA, A.vonGottberg, T.Shiriet al. *J Infect Dis.*, 2015,**212**, 1082–92.
- Pebody, RG., T. Leino, H. Nohynek, et al. *Euro Surveill.*, 2005,**10**, 174–8.
- Pedersen, RH, Lohse N, Østergaard L et al.*HIV Med*,2011,**12**, 323.
- WHO.Pneumococcal vaccines, *WHO position paper.*, 2012, **87**, 129-44.
- Schutze, G.E., E.O. Jr Mason , Barson WJ. *Pediatr Infect Dis J.*, 2002; **21**, 278–282.
- Sharma, S.K., J.R. Casey, M.E. Pichichero.*J Infect Dis.*, 2012, **205**, 1225–9.
- Struijk, G.H., A.J. Lammers, R.J. Brinkman. *Transpl Infect Dis.*, 2015,**17**, 192–200.
- Thornhill, J., A.Sivaramakrishnan, C.Orkin. *Vaccine*, 2015,**33**, 3159–60.
- Tobudic, S., V. Plunger, G. Sunder-Plassmann et al. *PLoS One*, 2012,**7**, e46133.
- Torda, A., Q. Chong, A. Lee, et al. *Transpl Infect Dis* , 2014, **16**, 751–9.
- Torling, J., J.Hedlund, H.B. Konradsen et al. *Vaccine*, 2003,**22**, 96–103.
- Tsachouridou, O., L. Skoura, P. Zebekakis et al. *Int J Infect Dis.*, 2015, **38**, 24–31.
- Zhang, L, Z. Li, Z. Wan et al. *Vaccine*, 2015, **33**, 4430–6.

Дата на постъпване: 18.04.2016 г.

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

ТРОПИЧЕСКА ТРЕСКА ДЕНГА – СЪВРЕМЕННА ЕПИДЕМИОЛОГИЯ И ВАКСИНОПРОФИЛАКТИКА

ГАЛИНА ЖЕЛЕЗОВА ЖЕЛЕЗОВА *

Катедра „Биология, медицинска генетика и микробиология“
Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

Денга е вирусна тропическа треска, която е пренасяна от комари и е най-бързо разпространяващата се трансмисивна инфекция в света. Липсва специфично антитовирусно лечение, особено необходимо за тежките клинични форми – хеморагична треска и денга шок синдром. Векторният контрол дава само частичен успех срещу разпространението на болестта. В рамките на последните пет години е създадена първата ваксина срещу денга. Тя е преминала успешно III-та фаза на клинични проучвания, в които е доказана нейната ефективност за профилактика на болестта и снижение на хоспитализираните случаи с тежки клинични форми. Ваксината е достигнала етап на лицензиране в няколко от страните, ендемични за денга. Настоящият обзор представя съвременната епидемиология на инфекцията денга и характеристиките на първата ваксина срещу денга.

Ключови думи: денга, комари, ваксина.

Galina Zhelezova. TROPICAL DENGUE FEVER – CONTEMPORARY EPIDEMIOLOGY AND VACCINE PROPHYLAXIS

Infection with dengue virus is the most rapidly spreading mosquito-borne viral disease in the world. There is no effective antiviral treatment for dengue illness other than supportive care, especially for severe cases as hemorrhagic fever and dengue shock syndrome. Vector control has been only partially successful in decreasing dengue transmission. Within the past five years the first dengue vaccine entered phase III clinical trials, demonstrated efficacy in prevention of the disease, reduction of hospitalized severe dengue cases and reached licensure in several dengue

* За контакти: Доц. д-р Галина Железова Железова, дм София, УБ „Лозенец“, ул. „Козяк“ 1, e-mail: gzhlezova@gmail.com Тел. 0889 60 33 30

endemic countries. This review summarizes the current status of dengue epidemiology and the characteristic of the first vaccine against dengue.

Key words: dengue, mosquito, vaccine

УВОД

Според СЗО, вирусната треска денга се определя като най-бързо разпространяваща се векторно-преносима болест [WHO, 2015].

Приблизително половината от популацията на земното кълбо днес живее в рискови зони за заразяване, като всяка година се регистрират около 400 милиона случая [Bhatt S, 2013:504–507]. В последните 20 години броят на заболяелите се е увеличил четирикратно и тази тенденция продължава в глобален мащаб. Денга треската е нарастващ здравен проблем в тропическите и субтропическите страни на Азия и Латинска Америка. Много често се проявява под форма на непредсказуеми взривове, парализиращи здравната система и нарушаващи социалната и икономическата активност на засегнатите райони.

Във връзка с това СЗО е създава глобална стратегия за контрол и превенция на денга инфекцията за период от 2012–2020 год., която предвижда намаляване на заболяемостта с 25% и смъртността с 50 % в ендемичните за денга райони на света до 2020 г.[WHO, 2012].

ЕПИДЕМИОЛОГИЯ НА ИНФЕКЦИЯТА

Болестта денга спада към векторно-предаваните ендемични трансмисивни инфекции, типична за тропическите и субтропическите региони. Епидемии се наблюдават основно в Южна Америка, Азия, Африка и Австралия. Засегнати са повече от 100 милиона души в над 100 държави и приблизително 500 000 са регистрираните случаи на тежки клинични форми годишно.

Причинител на заболяването е денга вирусът. В джунглите резервоар на инфекцията са примати – шимпанзета, макаци и павиани. В градската среда резервоар на инфекцията са болните хора. Векторите на разпространение са комарите от рода *Aedes* – основно *Aedes aegypti*, но също така и *Aedes albopictus*, известен още под името азиатски тигров комар. Естественото обитаване на тези комари са тропическите и субтропическите райони, но в последните десетина години тези видове разширяват своя естествен ариал, като *Aedes albopictus* се характеризират и с по-висока издръжливост към ниски температури, позволяващо им активно навлизане в по-северни ареали на обитаване.

Комарите *Aedes* се размножават в малки водоеми, а яйцата им са устойчиви на суша. Заразяват се като смучат кръв от лица с виремия и остават инфектирани за целия си живот (1–3 месеца), като женските предават инфекцията трансвариално на своето потомство.

Основните рискови контингенти за развитие на заболяване са населението на ендемичните райони. Значителна роля в разпространението на инфекцията имат и лицата, пътуващи до тези райони, както и хората обитаващи новите ареали на основните вектори, които се разпространяват и заемат все повече нови територии. Така например в САЩ, през 2010 година, водещ причинител на фебрилни състояния сред туристи, завръщащи се от Карибския район, Латинска Америка и Азия, са случаите на денга инфекция [CDC. Travel-Associated Dengue Surveillance, 2010].

Климатични промени

В началото на 21 век се наблюдава безпрецедентна промяна в статуса на вектор-преносимите вирусни инфекции в цял свят, която включва и денга треската. Комарите, преносители на тези инфекции, се установяват трайно на територията на Европейския континент с последващ пренос на съответните инфекции. Типични за тропическите и субтропическите райони днес, те се срещат и като изолирани случаи на територията на редица Европейските страни [Medlock JM, 2015: 721–730]. Тези промени са резултат от действието на редица фактори като глобалното затопляне на климата и нарастващата глобализация, съпроводена от интерконтиненталните въздушни пътувания и корабен транспорт. Всички тези фактори създават нови възможности за повишена инвазия на вектори и патогенни. През декември 2012 г. в Европа е регистриран първи взрив от денга, засягащ 1400 души, пребиваващи на остров Мадейра [WHO Dengue Fever in Madeira]. От там инфекцията се пренася като изолирани случаи в Германия, Франция и Англия. Като се има предвид присъствието на установени носители на инфекцията и появата на огнища на болестта, налице е риск тропическата треска денга през следващите години да стане постоянно присъствие в страните от Европейския съюз. Подобни процеси на разпространение на инфекцията, макар и все още не добре изследвани, протичат интензивно в Източна Европа и Средиземноморието.

В България към настоящия момент не са регистрирани случаи на денга треска, но инфекцията представлява потенциална опасност. Причина за това е отскоро доказано присъствие на потенциалните вектори на инфекцията, както и регистрирани единични случаи на денга в съседни страни. Комарите, пренасящи тази инфекция се наблюдават отскоро в нетипични райони като Румъния, Турция, Сърбия и Гърция [Giatropoulos 2012:262–269; Prioteasa 2015:177–181]. В България те са регистрирани за първи път през лятото на 2011 год. в крайморски зони. По този повод в нашата страна е приета Национална програма за профилактика и контрол на векторно-предавани трансмисивни инфекции при хората в Република България за 2014–2018 г. [Национална програма, 2014].

Денга вирус

Денга вирусът е от семейство Flaviviridae и има едноверижен позитивен РНК геном. Той се състои от около 11000 бази, кодиращи три структурни протеина (капсиден протеин С, мембранен протеин М, протеин на обвивката Е) и седем неструктурни протеина (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5).

Заболяването денга се причинява от четири серотипа на денга вируса (от 1 до 4). Инфекцията с даден серотип индуцира специфичен имунитет, който не защитава от заразяване с друг серотип на вируса.

Патогенеза и имунитет

Денга вирусът се размножава в клетки на мононуклеарната фагоцитна система и в дендритни и ендотелни клетки. Той може да предизвиква потискане на функцията на костния мозък, водещо до намален брой лимфоцити и тромбоцити. Неутрализиращите антитела са критичен компонент в протективния имунитет срещу денга вирусната инфекция. Някои от тях са насочени срещу криптични епитопи и имат ограничена неутрализираща способност. Счита се, че патогенезата на тежките клинични форми е частично имунно медирана, но точният механизъм не е категорично определен.

Протективният имунитет след естествена инфекция е серотип специфичен и продължителен. Лицата, които притежават такъв имунитет обаче, имат повишен риск от развитие на хемрагична треска или шокос синдром, в случай, че се инфектират повторно с друг серотип. Този феномен се нарича антитяло-медирано усилване на инфекцията. Наблюдава се, когато вече образувани антитела от предишна инфекция се свързват с вирусни частици от друг серотип при повторна инфекция, но не могат да неутрализират вируса. В тези случаи образуваният комплекс вирусна частица – антитяло се прикрепва към Fc γ рецепторите на циркулиращите моноцити, което улеснява инфектирането им с вируса. Крайният резултат е повишаване на вирусната репликация и по-висок риск от развитие на тежки клинични форми [Whitehead 2007: 518–528].

Комплексният характер на патогенезата на денга вирусната инфекция и нейната връзка с имунното усилване на инфекцията са много сериозен проблем в създаването на безопасна и ефективна ваксина [Nedjadi 2015: 212].

Клинична картина, диагноза и лечение

Клиничният спектър на заболяването, което може да бъде причинено и от четирите серотипа на денга вируса, варира в широки граници – от самоограничаваща се инфекция до тежки клинични форми, с потенциално летален изход. В 75% от случаите инфекцията се проявява като инапарентна форма. Типичната клинична картина се нарича денга треска. Тя протича с клиника

на грипоподобно състояние, повишена температура, силни болки в ставите, главоболие, повръщане, обрив по тялото и има средна продължителност от 7–14 дни.

Тежките клинични случаи, които се наблюдават предимно при деца, са денга хеморагична треска и денга шокос синдром. Характеризират се с повишена капилярна пропускливост, значителна тромбоцитопения и средно до умерено увредена чернодробна функция [Halstead 2007, 1644–1652].

Хеморагичната симптоматика включва кръвене от кожата и гастроинтестиналния тракт. Тези случаи могат да имат летален изход. Денга инфекция по време на бременност се асоциира с ниско тегло при раждане и недоносеност [Ribeiro 2016:36–46].

RT-PCR е предпочитан метод за поставяне на правилната диагноза. Други диагностични методи са серологични тестове за доказване на антитела или тестове за доказване присъствие на специфичен антиген.

Няма специфично антигиврусно лечение, поради което се прилага само симптоматична терапия.

Профилактика – стратегии за контрол на векторите

При липсата на специфична антивирусна терапия, мерките за ефективен векторен контрол се определят като много важни за снижаване на заболяемостта и смъртността от денга. Стандартните подходи в това отношение не дават достатъчно задоволителен резултат.

Разработват се нови стратегии с цел снижаване трансмисията на вируса. Така например, инфектирането на *Aedes aegypti* със симбиотичния бактерия *Wolbachia* води до инвазия на тази бактериална инфекция в популацията на комарите, като в същото време тя интерферира с вируса на денга и го потиска. Предполага се, че това може да прекъсне трансмисията на вируса [Ferguson 2015:279]. Такива *Wolbachia*-инфектирани комари са разпространени в Австралия и ефектът от това е под наблюдение. Друг подход е създаване на генномодифицирани *Aedes aegypti* комари, резистентни на денга вирусна инфекция [Franz 2014, e2833]. Тези подходи изискват по-продължително наблюдение, поради което ефектът от тяхното приложение относно превенцията на денга не се очаква в близките години.

Ваксинопрофилактика

Нуждата от ваксина срещу денга е належаща, поради факта, че инфекцията има характер на нарастваща заплаха за цял свят, ареалът на заразените комари се увеличава, както и броят на хората, пътуващи до ендемични зони. СЗО включва денгата като една от десетте най-важни инфекции, за които има необходимост от създаване на ваксина.

Необходимостта от стимулация на протекция срещу четирите вирусни серотипа е значително предизвикателство в създаването на ваксина, главно поради ефекта на усилване на вирусната инфекция при последващо заразяване с друг серотип. Към настоящия момент съществуват голям брой проучвания за създаване на денга вирус ваксини. Тези кандидат-ваксини в развитие са много на брой и с различни характеристики, вариращи от атенюирани щамове създадени чрез класическите технологии на серийни пасажи на вируса до ваксини, разработени на базата на съвременни молекулярно биологични технологии. Повечето от тях са в различни фази на клинични проучвания.

Първата и единствена ваксина, завършила успешно III фаза на двойно сляпо, плацебо-контролирано клинично проучване, е ваксината Dengvaxia® (CYD-TDV), създадена от фирмата Sanofi Pasteur. Тя е резултат на повече от две десетилетия на научните иновации и сътрудничество, развита е на базата на 25 клинични проучвания в 15 страни по целия свят. В тях са включени над 40 000 доброволци, които са преминали успешно през фази I, II и III. Доброволците, които са получили ваксината, са 29000 души. В три проучвания са включени 35000 деца на възраст между 2 и 16 год от райони на Азия и Латинска Америка. Данните за ефикасност и безопасност на ваксината са публикувани през 2014 и 2015 год. Те я определят като ефективна и безопасна и са основание за нейното лицензиране. Наблюдения за ефекта на ваксината продължават в дългосрочни проучвания, чийто резултати предстои да бъдат получени [Capeding 2014:1358–1365; Hadinegoro 2015:1195–1206; Simmons 2015:1263–1264].

Dengvaxia® (CYD-TDV) – първата лицензирана ваксина срещу денга

Ваксината е резултат на високо съвременни технологии, продукт на фирмата Sanofi Pasteur. Тя е жива, рекомбинантна и тетравалентна срещу четирите основни серотипа на вируса (1, 2, 3 и 4). Съдържа четири химерни вируса, при които структурни гени на ваксиналния вирус на жълтата треска (YFV-17D) са заменени с гени от четирите денга вирусни серотипа [Bruno 2013:7100–7111; Schwartz 2015:3293–3298].

В окончателния анализ на ефикасността при възрастова група 9 – 45 год, Dengvaxia® е показала средно ниво на защита до 60% срещу денга инфекция и до 80% срещу хоспитализация.

По-детайлният анализ показва, че протективният ефект на ваксината е зависим от серотипа и варира между 35% и 78% [Villar 2015:113–123]. Ваксината има сигнификантно по-слаба протекция по отношение на серотип 1 и 2 в сравнение със серотиповете 3 и 4. Ваксината протектира по-добре лицата с предварително наличие на серумни антитела, в сравнение с тези, които нямат такива антитела. Това предполага, че тя проявява бустерен ефект на базата

на кръстосано реагиращи антители [Halstead 2016:130–104; Rothman 2016]. Счита се, че Dengvaxia губи част от Т клетъчните си епитопи, присъстващи в нейните неструктурните протеини, невключени във ваксината. Предполага се, че това може да ограничи индукцията на оптимално протективен Т клетъчен имунен отговор [Rivino 2015:1–11; Harenberg 2015:2317–2325].

Клиничните проучвания при деца между 2 и 16 год. показват, че се наблюдава по-висок процент на хоспитализации при ваксинираните деца на възраст под 9 год в сравнение с по-големите. Този притеснителен резултат изисква много внимателен анализ. По тази причина ваксината не се препоръчва за деца по-малки от 9 год. [Hernández-Ávila 2016:71–83].

Към настоящия момент Dengvaxia® е регистрирана за употреба за възрастовия интервал 9–45 години за лица, живеещи в ендемични за денга райони на света. Тя е първата ваксина, лицензирана за предотвратяване на заразната тропическа треска денга в света. Първите серии от ваксината са налични на пазара от края на 2015 год и началото на 2016 год. Нейните два очаквани основни ефекта са снижение на случаите на вирусологично потвърдена денга инфекция и снижение на честотата на хоспитализация при денга хеморагичната треска.

Ваксината ще се въвежда във високо ендемичните за денга страни, където има най-голям потенциал за намаляване на денга тежестта в световен мащаб и възможност за постигне целите от програмата на СЗО – намаляване на смъртността от денга с 50% и заболяемостта с 25% до 2020 г. в тези страни.

За последните месеци на 2015 год. и началото на 2016 год. ваксината е одобрена за употреба в Мексико, Филипини, Бразилия и Ел Салвадор.

В Мексико, независимо от проведените кампании на правителството за превенция на пренасяните от комари вирусни инфекции, се регистрира нарастване на случаите на инфекции, предизвикани от денга вирус, чукунгуния вирус и зика вирус, предавани от едни и същи комари. Треската денга се определя като нарастваща заплаха за страната. Мексико е първата страна, в която ваксината Dengvaxia® е одобрена и регистрирана за употреба през декември 2015 г. На тази първа стъпка в опит за превенция на денга инфекцията се отдава изключително голямо значение [Dengvaxia®, World's First Dengue Vaccine, Approved in Mexico, 2015].

Филипините са страна, която заедно Мексико и Бразилия участва в трите фази на клинично проучване на ваксината. Те са втората държава, която съвсем скоро след Мексико, одобрява приложението на ваксината за рутинна употреба. През февруари 2016 год. са проведени първите имунизации. Програмата за имунизация на 1 милион деца в училищна възраст ще стартира през април 2016 год. Тя ще обхваща 3 от най-уязвимите ендемични района в югоизточната част на страната, включително и столицата Манила. Според СЗО в страната само през миналата година са регистрирани 200 000 случая на денга, предимно при деца. Регистрирани са и 598 смъртни случая [Dengue vaccine in PHL, 2016; Edillo 2015:360–366].

Бразилия е страна, която в настоящия момент се бори с огнища от денга треска и Zika вирусна инфекция. Само през 2015 год. са регистрира 1,5 милиона случаи на денга, което е нарастване на заболяемостта с 178% в сравнение с 2014 год. В настоящия момент Бразилия вече е одобрила прилагането на Dengvaxia, но не е конкретизирала стратегия за ваксиниране. Бразилия, както и Салвадор, който е също държава ендемична за денга, имат одобрение на техните правителства за денга ваксината и очакват нейното приложение през 2016 год. [Dengvaxia in El Salvador, 2016]. Според Пан-Американската здравна организация, трите латиноамерикански държави – Мексико, Бразилия и Салвадор, носят около 83% от тежестта на денга инфекциите в Северна и Южна Америка [Dengue vaccination begins 2016]. Очаква се приложението на ваксината в тези страни да има изключително благоприятен ефект.

Фирмата производител Sanofi Pasteur има намерение да произведе и достави ваксината в други 16 ендемични за денга страни. Така например тази ваксина е особено актуална за Индия, където правителството докладва около 20 000 хоспитализации годишно свързани с денга вирусна инфекция, но се предполага, че реалният брой инфектирани е около 5 милиона случаи [Prakash 2015:7–11]. Ваксина, произведена във Франция е готова да бъде доставена за Индия.

Производство и доставка на ваксината за САЩ и Европа се предвижда в един по-далечен план във времето [Dengue info].

През април 2016 год. се очаква СЗО да публикува своята официална позиция относно употребата на Dengvaxia като ваксина срещу денга, създавайки един общ стандарт за нейната употреба от различните страни. Този стандарт се изчаква от редица страни, имащи необходимост от провеждана на ваксинална профилактика срещу денга [Dengue – WHO].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Според СЗО половината от населението на земята е в риск от инфекция с денга вирус, пренасян от комари, чието разпространение заплашително нараства. Наличието на 500 000 лица с тежки клинични форми на денга, изискващи хоспитализация всяка година, определя проблема като особено значим. Dengvaxia на Sanofi Pasteur предпазва от четирите денга вирусни серотипове. Одобрението на ваксината се определя като много съществен момент в стратегията за борба с денга вирусната инфекция. Очакванията са денга треската да влезе в групата на ваксино-предотвратими инфекциозни заболявания.

ЛИТЕРАТУРА

Национална програма за профилактика и контрол на векторно-предаванитрансмисивни инфекции при хората в Република България 2014 – 2018 г.
http://www.riokoz-vt.com/National_programa_Health-20.pdf

Bhatt, S, P.W. Gething, O.J.Brady et al. Nature, 2013, **496**, 504–507.

Bruno, G, B. Olivier, L. Jean et al. Vaccine, **33**, 7100–7111.

Capeding, M.R., N.H. Tran, S.R. Hadinegoro et al. Lancet, 2014, **384**, 1358–1365.

CDC Travel-Associated Dengue Surveillance, 2010; <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5923a3.htm>

Dengue vaccine rolls out nationwide in PHL 2016; <http://www.gmanetwork.com/news/story/554826/scitech/science/dengue-vaccine-rolls-out-nationwide-in-phl>

Dengue WHO; <http://www.who.int/immunization/diseases/dengue/en/>

Dengue vaccination begins 22. 02. 2016; <http://www.dengue.info/#overlay=content/dengue-vaccination-begins>

Dengvaxia Approved in El Salvador 2016; http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=php?option=com_topics

Dengvaxia®, World's First Dengue Vaccine, Approved in Mexico, December 9, 2015; <http://www.sanofipasteur.com/en/articles/dengvaxia-world-s-first-dengue-vaccine-approved-in-mexico.aspx>

Edillo F.E., Y.A. Halasa, F.M. Largo et al. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2015, **92**, 360–366.

Ferguson, N.M., D.T. Hue Kien, H. Clapham et al. 2015, Sci. Transl. Med., **7**, 279.

Franz, A.W., I. Sanchez-Vargas, R.R. Raban et al. 2014, PLoS Negl. Trop. Dis., **8**, e2833.

Giatropoulos, A., N. Emmanouel, G. Koliopoulos, J. Med. Entomol., 2012, **49**, 262–269.

Hadinegoro, S.R., J.L. Arredondo-García, M.R. Capeding, et al. N. Engl. J. Med., 2015, **373**, 1195–1206.

Halstead S.B. Lancet, 2007, **370**, 1644–1652.

Halstead, S.B., P. K. Russell. Vaccine, 2016 pii: S0264-410X(16)00130-4.

Harenberg, A., S. Begue, A. Mamessier, et al. Hum. Vaccin. Immunother., 2013, **11**, 2317–2325.

Hernández-Ávila, M., E. Lazcano-Ponce, J.E. Hernández-Ávila et al. Salud. Publica Mex., 2016, **58**, 71–83.

Medlock, J. M., S. A. Leach. Lancet. Infect. Dis., 2015, **15**, 721–730.

Nedjadi, T., S. El-Kafrawy, S.S. Sohrab, et al. Virol J, 2015, **12**, 212.

Prakash, O., D.D. Singh, G. Mishra, et al. Indian. J. Med. Res., 2015; **142**, Suppl:S7–S11. Dengue Info; <http://www.dengue.info>

Prioteasa, L.F., S. Dinu, E. Fălcută. J. Am. Mosq. Control. Assoc. 2015, **31**, 177–181.

Ribeiro, C.F., V.G. Lopes, P. Brasil, et al. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo, .2016, **58**, 36–46.

Rivino, L. Expert. Rev. Vaccines, 2015, **27**, 1–11.

Rothman, A.L., F.A. Ennis. J. Infect. Dis., 2016, pii: jiw068.

Schwartz, L.M., M. E. Halloran, A. P. Durbin et al. Vaccine, **33**, 2015, 3293–3298.

Simmons, C.P., N. Engl. J. Med., 2015, **373**, 1263–1264.

Villar, L., G.H. Dayan, J.L. Arredondo-García, et al. N. Engl. J. Med., 2015, **372**, 113–123.

Whitehead S.S., J.E. Blaney, A.P. Durbin, et al. Nat Rev Microbiol, 2007, **5**, 518–528.

WHO Dengue Fever in Madeira, 2012; http://www.who.int/csr/don/2012_10_17/en/

WHO, 2012; <http://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/>

WHO, 2015; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>

Дата на постъпване: 07.03.2016 г.

ИСТОРИЧЕСКИ ПРЕГЛЕД НА ХИРУРГИЧНОТО ЛЕЧЕНИЕ НА РАКА НА ПРОСТАТНАТА ЖЛЕЗА

БОРИЛ ПЕТРОВ, КРАСИМИР ЯНЕВ*

Клиника по урология, Университетска болница „Лозенец“,
Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“
*Клиника по урология, МБАЛ „Александровска“,
Медицински университет – София

Ракът на простатната жлеза /РПЖ/ е важен медико-социален проблем не само при застаряващите мъже, но и в по-млада възраст- той се „подмладява“. РПЖ е най-честото злокачествено заболяване на уrogenиталната система с честота 214/100 000 мъже в Европа и е на второ място като причина за смърт след рака на белия дроб. Налице е тенденция за намаляване на смъртността от РПЖ в страните от Западна Европа, което е резултат на много добрата ранна диагностика и изключителния напредък в лечението на това заболяване. През последните 150 години с развитието на оперативната техника и медицинската апаратура са предложени различни хирургични методи за радикална простатектомия. Авторите правят исторически преглед на развитието и въвеждането на различните оперативни методи, без да се спира подробно на техниката им.

В УБ „Лозенец“ се прилагат много успешно отворени и минимално инвазивни оперативни техники за радикална простатовезикулектомия при пациенти с очаквана продължителност на живота над 10 години.

Две са основните оперативни техники при хирургичното лечение на рака на простатната жлеза – отворена радикална простатовезикулектоимия и минимално инвазивна радикална простатектомия. Към първата група спадат перинеалната и ретропубична простатектомия, а втората група оперативни техники включва лапароскопска радикална простатектомия (ЛРП), ендоскопска екстрапиритонеална радикална простатектомия (ЕЕРПЕ) и робот-асистирана.

Минимално инвазивните оперативни техники за лечение на ограничен в простатата простатен карцином все повече се утвърждават в хирургичната практика, но все още само в няколко центъра в България. За разлика от западноевропейските урологични клиники където новите технологии намират бързо приложение и развитие, у нас те се въвеждат с 10 годишно закъснение.

Boril Petrov, Krasimir Yanev. A HISTORICAL OVERVIEW OF THE SURGICAL TREATMENT OF PROSTATE CANCER

Prostate cancer, or carcinoma of the prostate (CP), is a significant medical and social problem not only with ageing men but also with much younger men, in other words, the conditions is ‘getting younger’. CP is the most common malignancy of the urogenital system with an incidence of 214/100 000 men in Europe, and is the second most common cause of death after lung cancer. There is a tendency towards a decrease in the CP-related mortality rate in Western Europe, as a result of very good early diagnostics and exceptional advances in the treatment of this disease.

In the past 150 years, with the development of surgical methods and medical equipment, various surgical techniques for radical prostatectomy have been proposed. The author offers a

historical overview of the development and introduction of different surgical methods, without dwelling in detail on their techniques.

In 'Lozenets' University Hospital, various open and minimally invasive surgical techniques for radical prostatectomy are employed in cases with a life expectancy of over 10 years.

The main surgical techniques for surgical treatment of the carcinoma of the prostate are two – open radical prostatovesiculectomy, and minimally invasive radical prostatectomy. The first group includes perineal and retropubic prostatectomy, while the second group of surgical techniques includes laparoscopic radical prostatectomy (LRP), endoscopic extraperitoneal radical prostatectomy (EERPE), and robotic prostatectomy.

Minimally invasive surgical techniques for the treatment of patients with a localized prostate cancer are becoming more and more established in the surgical practice. However, they are employed in only a few medical centres in Bulgaria. Unlike Western European urological clinics, where new technologies quickly find their way and further development, our clinics usually lag 10 years behind with regard to the introduction of new techniques.

Key words: prostate cancer, radical prostatectomy.

УВОД

Ракът на простатната жлеза /РПЖ/ е важен медико-социален проблем не само при застаряващите мъже, но и в по-млада възраст – той се „подмладява“. РПЖ е най-честото злокачествено заболяване на урогениталната система с честота 214/100 000 мъже в Европа и е на второ място като причина за смърт след рака на белия дроб (Jemal 2008; 8: 1–96). По данни на Българския национален раков регистър през 2011 г. са регистрирани 2637 нови пациенти с РПЖ. Това прави 73.7/100 000 заболяемост. Същата година от РПЖ са починали 900 пациенти. Фактичестката смъртност е 25.2/100 000. След злокачествените тумори на кожата РПЖ е най-често срещаното злокачествено заболяване сред мъжете в България.

В Европейската общност като цяло смъртността от РПЖ е с тенденция да намалява. През 2006 г. тя е спаднала до 12.5/100 000 и продължава да намалява. За разлика от нашата страна, Румъния и Русия, където смъртността все още продължава да расте (Bosetti 2011;60:1–15).

Тенденцията за намаляване на смъртността от РПЖ в страните от Западна Европа е в резултат на много добрата ранна диагностика и изключителния напредък в лечението на това заболяване с широкото прилагане на радикалната простатектомия при ограничени в простатата тумори, а така също и на комбинирана антиандрогенна и лъчетерапия в случаите на локално авансирало заболяване (Bill-Axelsson 2005; 352:1977–1984).

Основните причини за все още увеличаваща се смъртност от РПЖ у нас се дължат на закъснялата диагностика на заболяването в резултат на ниската здравна култура на населението, самолечуване, липса на профилактични прегледи и неспазване алгоритмите за диагностика от страна на специалистите. Много важно е и късното въвеждане на съвременните методи на лечение и то само в няколко големи медицински центрове в страната.

Решението относно терапията се взема въз основа на индивидуалния клиничен и биологичен стадий на тумора. Очакваната продължителност на живота на пациента и неговото общо състояние също са важни критерии при избора на терапия. Благодарение на подобрените възможности за диагноза и особено с въвеждане изследването на ПСА, карциномите на простатата се диагностицират все по-често в ранен клиничен, локално ограничен стадий. При този стадий за пациента и лекуващия лекар са налице различни възможности за терапия, които по същество включват радикална простатовезикулектомия, перкутанна лъчетерапия, брахитерапия, хормонална терапия, но също и стратегия на изчакване, т.н. стратегия “Wait-and-see“. През последните 150 години с развитието на оперативната техника и медицинската апаратура са предложени различни хирургични методи за радикална простатектомия.

В УБ „Лозенец“ се прилагат много успешно отворени и минимално инвазивни оперативни техники за радикална простатовезикулектомия при пациенти с очаквана продължителност на живота над 10 години.

ВИДОВЕ ОПЕРАТИВНИ ТЕХНИКИ

А. Отворена радикална простатовезикулектомия

Перинеална простатектомия

Първата радикална простатектомия е извършена през 1866 г. от немския хирург Theodore Bilioth чрез перинеален достъп. Тази операция не е намерила по-нататъшно развитие поради високия си процент смъртност. Понастоящем първата радикална простатектомия се свързва с Hugh Hampton Young. През 1905 г. той подробно описва оперативната техника на перинеалната радикална простатектомия (Young 1905; 16:315–321). По това време смъртността от операцията е била 17 %, с много чести усложнения (Young 1926; 653–654).

Ретропубична простатектомия

През 1945 г. T. Millin описва за първи път ретропубичната транскапсуларна простатектомия за лечение на ДПХ (Millin 1945; 693–696). През 1947 г. той адаптира тази техника за извършване на радикална простатектомия при РПЖ (Mummelaar 1949; 62:340–348).

С увеличаване познанията за анатомията на малкия таз, през последните 30 години стана възможно значително да се подобри ефективността на радикалната простатектомия по отношение контрола на туморите, впечатляващо да се намали морбидността и да се разработи запазваща потентността и щадяща нервите техника на опериране. Заслуга за това има американския уролог Patrick Walsh (Walsh 1983; 4:473–485). Наблюдаваното като резултат от това подобрение на качеството на живота в постоперативния период, заедно с добрите дългосрочни показатели за ефективността на лечението, превърнаха

радикалната простатектомия в най-честата, а понастоящем и най-ефективната форма на терапия при локално ограничен карцином на простатата .

Б. Минимално инвазивна радикална простатектомия

Лапароскопска радикална простатектомия (ЛРП)

Терминът „лапароскопия“ произхожда от 2 гръцки думи, означаващи фланг/страна/ и вътрешност. Днес лапароскопия означава процедура, при която съдържанието на интраперитонеалната кухина или на екстраперитонеалното пространство се изследват и манипулират при диагностични и/или терапевтични интервенции. Първ прилага експериментално лапароскопия в началото на ХХ век Georg Kelling, който вкарал въздух в абдоминалната кухина на куче и огледал коремните органи с цистоскоп (Kelling 1923 126:226). До 1990 г. лапароскопията в урологията се прилага спорадично и само с диагностична цел.

През 1991 г. Clayman съобщава за първата лапароскопски направена нефректомия (Clayman 1991 146:278). По същото време Schuessler съобщава за първата лапароскопски направена лимфаденектомия за рак на простатата (Schuessler 1991 145:988). Този автор описва отстраняване на семенните мехурчета по време на лапароскопска лимфаденектомия (Kavoussi 1993 150:417–419). През 1992 г. Schuessler прави и първата трансперитонеална лапароскопска радикална простатектомия и публикува резултатите от тяхната начална серия от 9 пациенти през 1997 г. (Schuessler 1997 50:854). Важно е да се отбележи, че тези първи операции /общо 9 за 5 години/ са продължавали средно по 9 часа, което е наложило необходимостта от по-нататъшно усъвършенстване на оперативната техника.

Основните предимства на ЛРП пред отворената простатектомия са минимално инвазивния достъп, значително по-добрата визуализация на оперативното поле чрез използване на камера и монитор, скъсен престой на уретралния катетър поради прецизно извършената уретровезикална анастомоза, както и редуциране на кръвозагубата по време на операцията. Всички тези предимства предполагат по-бързо възстановяване на пациента и съответно по-кратък болничен престой. Като недостатък се дискутират оперативната сложност, както и свързаното с това дълго време за обучение на хирургичния екип. Освен това трансперитонеалният достъп до екстраперитонеално разположената простата показва потенциални възможности за интраперитонеални усложнения. Така например в серия от 567 пациенти Guillonneau и съавтори посочват доста висок дял на интраоперативните усложнения от 17,1 %. Търсенето на начини за намаляване на тези усложнения довежда до развитието и налагането на **Ендоскопската екстраперитонеална радикална простатектомия (ЕЕРПЕ)** като първи метод на избор на лечение за пациенти с локализиран рак на простатата в бързо увеличаващия се брой на „простатни“ центрове в света.

Raboy и сътр. описват първата екстраперитонеална радикална простатектомия и за разлика от Schuessler те са много по-удовлетворени от резултатите от новоразвиващата се техника (Raboy 1997 50:849–853). По-нататъшното развитие на тази техника се свързва със Stolzenburg et al. и е известна като ендоскопска екстраперитонеална радикална простатектомия /ЕЕРПЕ/ през 2002 г. (Stolzenburg 2002 20:48–55). Терминът ЕЕРПЕ се използва, за да опише напълно екстраперитонеалния достъп до простатата за радикална простатектомия. На базата на големия си оперативен опит с тази техника същият авторски колектив от Университетската клиника в Лайпциг предлага много модификации и подобрения на тази операция, включително стандартизиране на достъпа за съхраняване на съдовонервния сноп на простатата, имащ отношение към запазване на потенциата (Stolzenburg 2006 67:17–21). Особен принос за запазване на постоперативната континентност има установената от същия колектив анатомична структура на външния уретрален сфинктер.

Робот-асистирана радикална простатектомия

От началото на новото хилядолетие масово се въведе робот-асистираната радикална простатектомия като алтернатива на ендоскопската. Тази техника предлага по-прецизна работа по отношение анастомозата, а така също и за запазване на съдово-нервния сноп. Като основен недостатък се посочва много високата цена за апаратурата и впоследствие за поддръжка.

Минимално инвазивните оперативни техники за лечение на ограничен в простатата простатен карцином все повече се утвърждават в хирургичната практика, но все още само в няколко центъра в България. За разлика от западноевропейските урологични клиники където новите технологии намират бързо приложение и развитие, у нас те се въвеждат с 10 годишно закъснение.

Радикалната ретропубична простатектомия /РРП/ е въведена в България през 1995 г.; лапароскопската радикална простатектомия /ЛРП/ 2005 г.; робот-асистираната ЛРП 2011г., брахитерапия 2010 г.

ЛИТЕРАТУРА

- Bill-Axelson A, Holmberg I, Ruutu M et al. Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med* 2005; 352:1977–1984
- Bosetti C, Bertuccio P, Chatenoud L, et al. Trends in mortality from urologic cancers in Europe, 1970–2008. *Eur urol* 2011;60:1–15
- Clayman RV, Kavoussi LR, Soper NJ et al (1991) Laparoscopic nephrectomy: initial case report. *J Urol* 146:278.
- Jemal A, et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2008; 8: 1–96.
- Kavoussi LR, Schuessler WW, Vancaillie TG, Clayman RV (1993) Laparoscopic approach to the seminal vesicles. *J Urol* 150:417–419.

- Kelling G (1923) Zur Colioskopie. Arch Clin Chir 126:226
- Memmelaar J, Millin T. Total prostatovesiculectomy; retropubic approach. J Urol 1949; 62:340–348.
- Millin T. Retropubic prostatectomy: a new extravescical technique report on 20 cases. Lancet 1945; 693–696.
- Raboy A, Ferzli G, Albert P (1997) Initial experience with extraperitoneal endoscope radical retropubic prostatectomy. Urology 50:849–853
- Schuessler WW, Vancaillie TG, Reich H et al (1991) Transperitoneal endosurgical lymphadenectomy in patients with localized prostate cancer. J Urol 145:988.
- Schuessler WW, Schulam PG, Clayman RV et al (1997) Laparoscopic radical prostatectomy: initial short term experience. Urology 50:854.
- Stolzenburg JU, Do M, Pfeiffer H et al (2002) The endoscopic extraperitoneal radical prostatectomy (EERPE): technique and initial experience. World J Urol 20:48–55.
- Stolzenburg JU, Rabenalt R, Tannapfel A, Liatsikos E (2006) Intrafascial nerve sparing endoscopic extraperitoneal radical prostatectomy. Urology 67:17–21.
- Walsh PC, Lepor H, Eggleston JC. Radical prostatectomy with preservation of sexual function: anatomical and pathological considerations. Prostate 1983; 4:473–485
- Young HH. The early diagnosis and radical cure of carcinoma of the prostate: being a study of 40 cases and presentation of a radical operation which was carried out in four cases. Johns Hopkins Hosp Bull 1905; 16:315–321.
- Young HH, Davis DM. Neoplasms of the urogenital tract. In: Young's Practice of Urology. Philadelphia: WB Saunders, 1926; 653–654.

Дата на постъпване: 27.02.2016 г.

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

АЛГОРИТЪМ ЗА ДИАГНОЗА НА ПРОСТАТЕН КАРЦИНОМ В УНИВЕРСИТЕТСКА БОЛНИЦА „ЛОЗЕНЕЦ“

БОРИЛ ПЕТРОВ*

Клиника по урология, Университетска болница „Лозенец“,
Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

Ракът на простатната жлеза /РПЖ/ е важен медико-социален проблем не само при застаряващите мъже, но и все по-често в млада възраст. По данни на Българския национален раков регистър РПЖ е най-често срещаното злокачествено заболяване сред мъжете в България след злокачествените тумори на кожата. Това поставя въпроса за ранната диагноза на заболяването. В Университетска Болница „Лозенец“ сме възприели алгоритъм за диагноза на РПЖ, включващ основните стъпки за откриване и проследяването му. Скринингът за РПЖ трябва да започне не по-късно от 45 г. възраст, а при фамилен анамнез за заболяването дори по-рано. Основен лабораторен показател е простатния специфичен антиген (ПСА) – свободен и свързан, както и съотношението между тях. При интерпретацията винаги се взема под съображение и възрастовите различия в стойността. Дигиталният ректален преглед е основен елемент на клиничната диагностика на РПЖ като се оценяват размерите, консистенцията, повърхността, подвижността на ректалната лигавица и наличие на болезненост при палпация. При трансректалното ултразвуково изследване се оценяват размерите на простатата, вътрешната структура и евентуално възможно преминаване извън капсулата към инфилтрация на мекхурчестите жлези. Биопсията под ултразвуков контрол е сектантна, ако е налице съмнение за тумор се провежда повторна биопсия с вземане на повече проби, т.н. сатурационна биопсия. Използваме и съвременните образни методи – ядрено-магнитен резонанс (ЯМР), компютърна томография (КАТ), ПЕТ-скенер и костна сцинтиграфия за детекция, локализация, стадиране и рестадиране, оценка на ефективността на заболяването в остатъчни туморни маси, както и мониториране на про-

* За контакти: Д-р Борил Петров, Клиника по урология, УБ „Лозенец“, 1407 София, ул. „Козяк“ 1 Тел.: 02/9607756

вежданата терапия. Спазването на стъпките от алгоритъма за диагноза на РПЖ осигуряват освен добрата и ранна диагностика, но и правилното стадиране на заболяването, неговото адекватно и оптимално лечение.

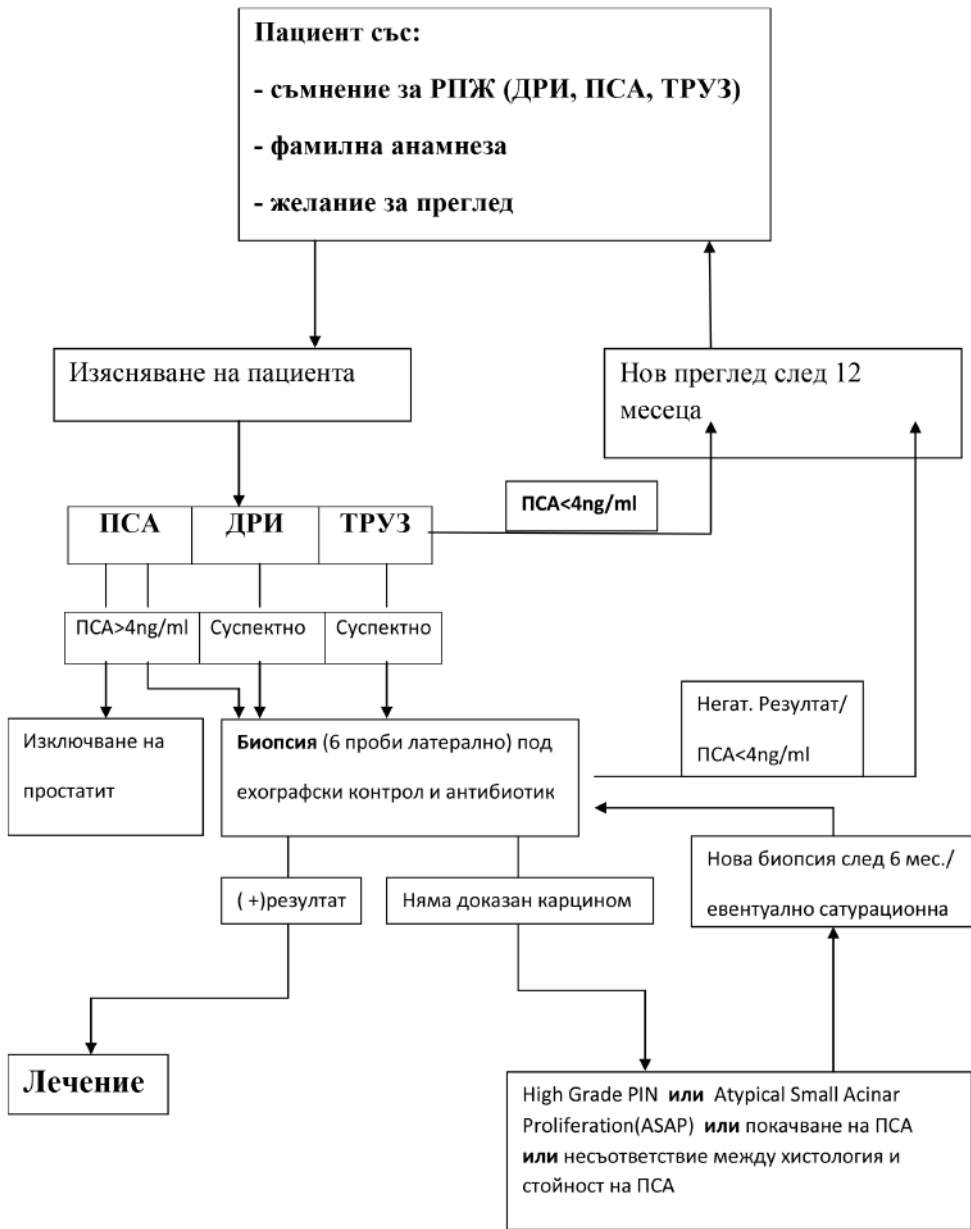
Boril Petrov. DIAGNOSTIC ALGORITHM FOR PROSTATE CANCER AT ‘LOZENETS’ UNIVERSITY HOSPITAL

The prostate cancer /PCA/ is a medical and social problem not only among ageing men, but also, more and more often, among young men. According to data provided by the Bulgarian national register of carcinoma incidence, PCA is the most common malignant disease among Bulgarian men, second only to malignant skin tumors. This raises the issue of early diagnostic screening of the disease. At “Lozenets” University Hospital we have adopted a diagnostic algorithm for PCA screening including the mains steps for the detection and identification of the disease, and its monitoring. Prostate cancer screening should begin no later that 45 years of age, and in the event of history of the disease in the family – even earlier. The main laboratory indicator is the prostate specific antigen (PSA) – free and protein bound, and the ratio between the two types. When interpreting the results, the age differences in the values should always be taken into consideration. The digital rectal examination is the basic component of the clinical diagnostics of PCA, because during this examination the size, consistency, surface, mobility of the rectal mucosa and the presence of pain during palpation are assessed. During the transrectal ultrasound test, the size of the prostate, the internal structure and the possible spreading outside the capsule engaging the vesicular glands. Biopsy under ultrasound control is sextant, and in the event of suspicions of tumor, a second biopsy is performed and more samples are take, the so called saturation biopsy We also use the modern methods of diagnostic imaging – MRI, CT, PET scans and bone scintigraphy, to detect, localize, stage, re-stage, assess the efficiency of the disease in the residual tumor cells, as well as to monitor the administered therapy. Observing the steps of the diagnostic algorithm for prostate cancer ensures not only the good and early diagnostics but also the correct staging of the disease and its adequate and optimal treatment.

Key words: prostate cancer, diagnostic.

УВОД

Ракът на простатната жлеза /РПЖ/ е важен медикосоциален хпроблем не само при застаряващите мъже, но и все по-често в млада възраст. По данни на Българския национален раков регистър РПЖ е най-често срещаното злокачествено заболяване сред мъжете в България след злокачествените тумори на кожата. Това поставя въпроса за ранната диагноза на заболяването. В началото рядко проявява симптоми и едва в локално напреднал стадий може да се стигне до микционни смущения, подобни на тези при доброкачествената простатна хипертрофия. В метастазирал стадий често се обръща внимание едва когато метастазите в костите предизвикват болки. Скринингът за РПЖ трябва да започне не по-късно от 45 г. възраст, а при фамилна анамнеза за заболяването дори по-рано. Диагнозата на простатния карцином е комплексен метод, който включва освен анамнеза, лабораторни изследвания, физикален преглед и образни изследвания. В Университетска Болница „Лозенец“ сме възприели следния алгоритъм за диагноза на РПЖ /фиг.1/:



Фиг. 1. Алгоритъм за диагностика

1. Простатен специфичен антиген (ПСА)

Физиологичното значение на ПСА се основава на втечняването на семиналната плазма, от която е изолиран за първи път през 1971 г от Hara et al. (Hara M 1971; 25, 322.). Той не е туморспецифичен, а само органо-, респективно тъканно специфичен елемент на семиналната плазма, който може да се измери в серума. Въпреки своята тъканна специфичност ПСА освен в простатата се открива и в други тъкани – при неоплазми на слюнчените жлези, при някои яйчникови тумори и при 70 % от туморите на гърдата. Значителна експресия обаче се наблюдава само при РПЖ и карцином на гърдата.

В серума ПСА се намира в две форми – свободна и свързана. По-голямата част, в около 90 %, е свързана със специфични антипротеази, а свободната фракция е приблизително 10 % от нивата на серумния антиген.

При ДПХ се намира повишена концентрация на свободен ПСА, докато при карциномите е ниска. Чрез измерване на свободния и тоталния ПСА и изчисляване на тяхното съотношение значително се подобрява специфичността на стойностите на ПСА, т.н. ratio. Референтните стойности на ПСА показват възрастова зависимост (Табл.1):

Таблица 1. Специфични за възрастта номинални стойности за тотален серумен ПСА (Oesterling JE 1996: 345–346)

Възрастова група (години)	Гранични стойности на ПСА (ng/ml)
40 – 49	0,0 – 2,5
50 – 59	0,0 – 3,5
60 – 69	0,0 – 4,5
70 – 79	0,0 – 6,5

2. Дигитално ректално изследване (ДРИ)

Дигиталният ректален преглед е основен елемент на клиничната диагностика на РПЖ. При палпацията се оценяват:

- тонуса на аналния сфинктер
- наличие на хемороидални изменения
- ампулата на ректума
- простатата: размери, консистенция, повърхност, подвижност на ректалната лигавица и болезненост при палпация Неуголемените семенни мехурчета не могат да се палпират (Hautmann R 1997: 65–66). При наличие на карцином на простатата при ДРИ се напипва груб, неравен възел, за разлика от еластичната консистенция при наличие на ДПХ. Палпираният възел винаги налага биопсично изследване. Диференциално диагностично се вземат предвид хронични възпаления, инфаркти на простатата, кисти на простатата и грануломатозен простатит (Wolff J 2004: 6–7). В различни проспективни изследвания чувствителността на ректалната

палпация за поставянето на диагноза карцином на простатата е 69–92 %, специфичността е между 48 и 89 % (Adolphs HD 1991: 735–740).

3. Трансректален ултразвук /ТРУЗ/ и биопсия

За трансректалния ултразвук се използват специално пригодени към анатомията ултразвукови сонди за ректална апликация. Те позволяват освен точно определяне размерите на простатата, също и оценка на вътрешната структура. По правило карциномните области се изобразяват хипоехогенно в сравнение с останалата тъкан. Освен размерите и разпространението на тумора може да се даде отговор на въпроса за възможно преминаване извън капсулата към инфилтрация на мехурчестите жлези.

Биопсия под ултразвуков контрол

Като стандартен метод за вземане на биопсичен материал в УБ „Лозенец“ сме възприели сектантна биопсия под ултразвуков контрол. Отрицателният резултат от биопсията не изключва РПЖ, така че ако все още е налице съмнение за тумор трябва да се направи повторна биопсия с вземане на повече проби, т.н. сатурационна биопсия. При нея се вземат между 20 и 30 проби, като се откриват до 50 % карцином при пациенти, които са класифицирани като свободни от тумор от предходна биопсия.

4. Ядреномагнитен резонанс (ЯМР)

При стойности на ПСА над 20 ng/ml е уместно провеждането на ЯМР преди простатната биопсия тъй като пункциите на простатата могат да предизвикат малки хематоми в жлезата, които да бъдат погрешно интерпретирани. Освен това методът дава много добра информация по отношение разпространение на тумора извън капсулата на жлезата. Затова ЯМР превъзхожда ТРУЗ както по отношение на детекцията и локализацията на тумора, така и при определянето на стадия. Посочените в литературата по-нови резултати за точността при стадирането на РПЖ е от 82 – 88 % със сензитивност от 80 – 95 % и специфичност от 82 – 93 % (Heuck A 2003: 464–473).

5. Компютрна аксиална томография (КАТ)

КАТ изследването няма значение за прогнозирането на патологичния стадий поради липсващото контрастиране между карциномните огнища и здравата простатна тъкан. КАТ може да бъде използван за преценка на състоянието на лимфните възли или за наличие на инфилтрация на перипростатните структури (m. levator ani, пикочен мехур, ректум) при високо рискови пациенти със стойности на ПСА над 20 ng/ml и Gleason score над 7, получен от простатната биопсия.

6. Позитрон-емисионна томография (ПЕТ)

При РПЖ основното приложение на ПЕТ е в комбинация с КАТ (ПЕТ/КАТ). Информацията от тази хибридна техника значително се увеличава поради наслагването на образите на ПЕТ с тези на КАТ. При РПЖ се използва за подпомагане на първичното стадиране, рестадиране, оценка на ефективността на заболяването в остатъчни туморни маси, както и мониториране на провежданата терапия (Weckesser M 2010: 169–177). Методът се прилага при пациенти с биохимичен рецидив, за изобразяване на костни метастази с много висока чувствителност (Tateishi U 2010: 523–531). Той е метод на избор при планиране на лъчелечение.

7. Костна сцинтиграфия

Скелетната сцинтиграфията е чувствителна техника за доказване на костни метастази и значително превъзхожда чувствителността на конвенционалните рентгенови снимки. Тя има основно приложение при пациенти с биопсично доказан РПЖ и стойности на ПСА над 20ng/ml.

Спазването на стъпките от алгоритъма за диагноза на РПЖ осигуряват освен добрата и ранна диагностика, но и правилното стадиране на заболяването и неговото адекватно и оптимално лечение.

ЛИТЕРАТУРА

- Adolphs HD (1991): Screening – Diagnostik und Ausschlussdiagnostik urologischer Tumoren. Prostatakarzinom – rectale Palpation mit hoher Sensitivität. Therapiewoche 41, 12, 735–740
- Hara M, Inorre T, (1971): Some physiochemical characteristics of gammaseminoprotein, an antigenic component specific for human seminal plasma. Jap J Legal Med 25, 322.
- Hautmann R, Huland H (1997): Urologische Diagnostik. Urologie. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 65–66.
- Heuck A, Scheidler B, Sommer B, Graser A, Muller-Lisse U-G, Mabmann J (2003): MR-Tomographie des Prostatakarzinoms. Der Radiologe 43, 464–473
- Oesterling JE (1996): Age specific reference range for serum PSA. N Engl J Med 335, 345–346.
- Tateishi U et al: A meta-analysis of (18)F-fluoride positron emission tomography for assessment of metastatic bone tumour. Ann Nucl Med 2010; 24(7): 523–531
- Weckesser M, K. Juergens. Prostatic carcinoma in PET-CT hybrid imaging, Thieme, New York, 2010, 169–177
- Wolff J, Altwein JE (2004): Prostatakarzinom – Grundlagen und Therapie. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 6–7.

Дата на постъпване: 27.02.2016 г.

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

СЕПТОПЛАСТИКА – ОСНОВНА ХИРУРГИЧНА ТЕХНИКА ПРИ ОПЕРАТИВНОТО ЛЕЧЕНИЕ НА ПАТОЛОГИЧНИТЕ ПРОЦЕСИ НА НОСА И СИНУСИТЕ

ПЕТКО КАБАКЧИЕВ*, ДИМИТРИНА ТОДОРОВА

Отделение по оториноларингология – УБ „Лозенец“,
Медицински Факултет на СУ „Св.Климент Охридски“

Септопластиката е една от най-честите оперативни интервенции в оториноларингологичната практика, но все представлява сериозно предизвикателство за редица хирурзи. Операцията може да бъде самостоятелна или като част от по-сложна интервенция на околните структури. Описана е кратка история на септопластиката както и основните методи на предоперативна диагностика. Хирургичният достъп и съвременните оперативните техники за коригирането на деформираната носна преграда са специално описани. Точната предоперативна диагноза на девиациите във връзка с патологията на носни свързаните околоносни синуси е важна за успеха на операцията. Интраоперативното използване на ендоскопи е много полезно както за хирурга, така и за обучаването на специализанти. Съвременната техника за септопластика всички етапи – достъп, резекция, мобилизация, репозиция и реконструкция/фиксация е представена. Някои проблеми на деформираната носна преграда са свързани с неуспехите на пластичните операции на носа, както и с патологията на околоносните кухини – синусит, носна полипоза и тумори на носа/синусите, епистаксис или риноликворея. Разгледани са усложненията при септопластика с оглед тяхната превенция и лечение.

* Доц. Петко Кабакчиев, дм, Завеждащ Отделение УНГ Болести, УБ Лозенец, 1407 София, ул. Козяк 1, факс: 029624771, тел: 029607352, моб: 0888136366, pkabakch@gmail.com

Septoplasty is one of the most frequently performed otorhinolaryngological procedures which might be very challenging for many of the surgeons. Septoplasty can be performed alone or as a part of a complex surgery of the related structures. A brief history of the surgery and essentials of a complete diagnostic evaluation are outlined. The surgical approaches and contemporary techniques to the correction of a deviated septum are underlined. An accurate preoperative diagnosis of pathologies of the septum in the context of the pathology of the nasal cavity, pyramid and the related paranasal sinuses is essential for the success of surgery. Intraoperative visualization through endoscope is very helpful for the surgeon and for the training of the residents. The modern technique of septoplasty with the phases of approach, resection, mobilization, repositioning and reconstruction/fixation is presented.

As particularly pathologies of the caudal septum are responsible for failures of nasal plastic surgeries, some special problems of this region such as pathology of the sinuses – sinusitis from a dental origin, polyposis and tumors of the sinunasal area, epistaxis or CSF leak. Finally, complications of septoplasty are reviewed, with an emphasis on prevention and treatment

Key words: septoplasty, endoscopy of the nose, nasal polyps, complications of septoplasty

ВЪВЕДЕНИЕ

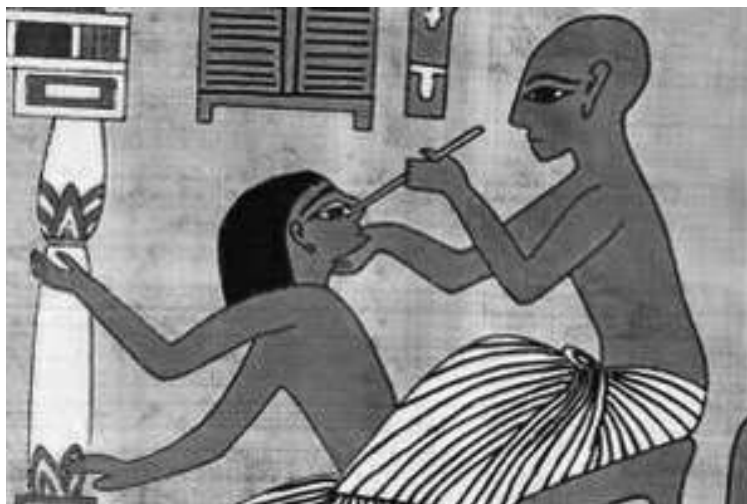
Затрудненото носно дишане е една от най-честите оплаквания с които пациентите посещават оториноларингологичните кабинети, и корекцията на носната обструкция е една от най-често извършваните хирургични интервенции в тази специалност. Индикациите за септопластика в съвременните медицински разбирания са значително променени, като освен хирургичното лечение на затруднено носно дишане, операцията най-често е само етап от:

- Комплексното ендоскопско хирургично лечение при заболявания на синусите – хроничен риносинусит с или без полипоза;
- Задължителен етап от ринопластиката (функционална и/или естетична);
- Ендоскопското отстраняване на доброкачествени и злокачествени туморни процеси;
- Третиране на рецидивиращи епистаксиси;
- Ендоскопска антростомия при поставяне на зъбни импланти и лечение на свързаните с това усложнения (ороантрална фистула и одонтогенен синусит);
- Хирургичното лечение на риноликворея;
- Третирането на носните конхи.

Кратка история на септопластиката

За първи път операция на носа е спомената в *Ebers Papyrus*, (Фиг. 1) датиран около 1550 г. преди Христос. По-късно един древен индийски хи-

рург, често цитиран като „бащата на хирургията – *Sushruta* (500 години преди Христа), е написал на санскрит медицински текст върху носните операции – *Sushruta Samhita*.



Фиг. 1

Специалното място на деформациите на носния септум за първи път е споменато от *Samuel Quermatz* през 1757, като той препоръчва ежедневно притискане на деформирания участък с цел коригирането му. В средновековната Отоманска империя операции на носа са извършвани и описани от известния за времето си хирург *Serafeddin Sabuncuoğlu* (Фиг. 2) (McDowell 1978:321–348).



Фиг. 2

В края на XIX век, с навлизането на местната анестезия с кокаин и подобряване на техниките на хемостаза, се развиват редица клонове на хирургията. В съвременната медицина *Francke Bosworth* за първи път отделя голямо внимание на затрудненото носно дишане и неговото оперативно лечение, като описаната от него през 1881 операция – септопластика със специално малко трионче (с което отстранява септалната деформация заедно с надлежащата мукоза) която бързо става една от най-популярните в САЩ. Подобна техника, с отстраняване на участъци от хрущялния септум, прилага и *Ephraim Ingals*, цитиран като основоположник на съвременната хирургия на носа. (Hinderer 1971:1–20).

В началото на XX век (1902 и 1904 г.) *Otto Freer*, наричан „тигър“ в Чикаго и *Gustav Killian* в Германия, описват т.нар. „субмукозна резекция“ (SMR), повдигайки муко-перихондриални ламба преди резекцията на хрущялни или костни дефекти и запазвайки дорзално и каудално 1 см ивици поддържащи външната форма на долните две трети на носа. Freer разработва и основния набор с инструменти, необходими за операциите на носа. По-късно *Metzenbaum* и *Peer* допринасят за усъвършенстване на оперативната техника (Hinderer 1971:1–20), но едва *Maurice Cottle* през петдесетте години на XX век формулира практичните правила на вече наречената „септопластика“ (Cottle 1948:403–429).

ОСНОВИ НА СЪВРЕМЕННАТА СЕПТОПЛАСТИКА

Консервативната септопластика е съхраняваща тъканите оперативна техника. След хемитрансфикционна инцизия и повдигането на мукоперихондриални и мукопериостални ламба посредством долни, средни и горни септални тунели областта на деформацията се коригира с минимални резекции. Целта е запазването на колкото е възможно повече картилагинозни и костни участъци на носната преграда, като особено щадяща е резекцията в участъците които са структурно значими – каудалната и дорзална области на септума. Има описани редица методи за репозиция, промяна на формата и реконструкция на хрущяла, с оглед редуцирането на постоперативните усложнения. Навлезлите напоследък минимално инвазивни ендоскопски методи на лечение намират приложение и в хирургията на носната преграда, особено при наличие на допълнителна патология – хронични или туморни процеси в носа и синусите. Водещите принципи в операциите са *консерватизъм* и *реконструкция*.

Етиология на деформациите на носната преграда

Една от причините за деформациите на носната преграда е нарушеното нарастване на септалния хрущял и вомера. Така леко отместване на хрущяла от подлежащата премаксилна по време на нормално раждане (по често при инструментално подпомогнато), както и вътреутеринни микротравми на носа

(от притискане от ръчичка или близък), могат да предизвикат деформация – изкривяване на септума към увредената стена тъй като неувредената доминира по време на по-късния растеж. Тази хипотеза е подкрепена от данни съпоставящи положението на главата на плода в матката и по време на раждането с по-късни наблюдения за посоката на деформация на носната преграда.

Основната причина за септалните деформации остават травмите – от ранно детство (когато често, неглежирани от родителите остават недиагностицирани) до напредналата възраст. Във всички случаи обаче затрудненото носно дишане се задълбочава с напредването на възрастта, особено при наличие на допълнителни фактори (алергия, полипоза и др).

В зависимост от направлението и големината на травматичната сила септалните хрущял и кост се фрактурират хоризонтално или вертикално, с една или множество фрактурни линии, с възможности и за фрактура на носните кости и перпендикулярната пластинка на етмоидалната кост (при значителни травми са засягат и други лицево-черепни кости). Обикновено най-изразена е деформацията на границата между хрущялната и костна част на носната преграда, като последиците за дишането са по-тежки когато има и лацерации на носната мукоза.

Значимост на проблема

Затрудненото носно дишане е много често оплакване от страна на пациентите. Чисто статистически оплакването, дължащо се на деформирана носна преграда, се среща в 33% от всички пациенти (Vainio-Mattila 1974:1–48). Клинично значими оплаквания, налагащи оперативно лечение, имат 26% от пациентите в това изследване.

Физиология

Носната преграда, изградена от хрущялна и костна конструкция и покрита с перихондриум, периостеум и типична носна мукоза, е основния компонент, осигуряващ цялостната форма на носа, подкрепяща носния дорзум. Това се отнася особено за върха на носа и колумелата. Еластичната роля на септума като намаляващ травмата върху черепната кухина при фронтални травми е факт, който обяснява и структурата на септума – почти изцяло хрущялен при новородените и малките деца, постепенно вкостяващ с възрастта.

Една от съществените функции на септума е разделението и насочването на въздушните потоци в носните кухини; това е в основата и на назо-пулмоналните и назо-кардиалните рефлексии, като нарушаването им може да предизвика сериозни оплаквания при пациентите (задух и усещане за недостиг на кислород, екстрасистоли и аритмия, промяна в кръвното налягане). Тези процеси се определят и от функцията на носната клапа – сечението/площа и ъгъла между хрущялната носна преграда и латералната носна стена на ни-

вото на предния полюс на долната носна конха. Всяка деформация в тази област, определяна най-често от септални деформации, променя структурата на клапата и не позволява оформянето и правилното насочване на ламинарните въздушни потоци в носните кухини и ходове. От своя страна тази промяна води до промени в динамиката на въздуха и субективното за пациента чувство за пълноценно дишане (носно), а оттам и субективното усещане за обструкция на носа или една от неговите половини. Все още не дотам установени, тези факти говорят за наличие на специфични рецепторни клетки в носната мукоза, реагиращи на скоростта и налягането на въздушните потоци (Leong 2010:139–45).

Патофизиология

Хрущялът на носната преграда осигурява структурна опора на цялата носна пирамида благодарение на изразената си еластичност- той може да абсорбира значителна сила без да бъде фрактуриран и трайно деформиран. Когато обаче приложената сила превиши неговата биомеханична критична точка, той се фрактурира.

Обикновено септалният хрущял е прав, поради вътрешните сили на налягане, които се балансират равномерно. Травмата обикновено предизвиква асиметрично увреждане на хрущяла, в резултат на което едната му страна започва да доминира над другата, като доминирането се изразява в изразено свръх-нарастване, в сравнение с контралатералната страна. Деформацията, получена в резултат на това, е с конвекситет показващ доминиращия начин на нарастване. Това обикновено е ипсилатералната на травмата страна.

Големината на необходимата да предизвика деформация на носната преграда травматична сила е обратно пропорционална на възрастта на човека. В детската възраст, особено в годините на изразено нарастване на лицевия череп, дори незначителна травма на носа може да предизвика едностранни микрофрактури, които имат тежки последици върху участъците на растежа и върху цялостното нарастване на септума.

Симптоми свързани с деформацията на носната преграда

- Усещане за запушен нос и трудно дишане през носа – с или без секрети от носа;
- Стичане на секрет от назофаринкса;
- Хъркане по време на сън с или без симптоми на обструктивна сънна апнея;
- Главоболие – напрежение в областта на лицевия череп, болка;
- Секрети от носа и промяна в цвета и консистенцията на носните секрети;
- Рецидивиращи остри риносинусити;
- Рецидивиращи епистаксиси;

- Нарушено обоняние и/или вкус;
- Продължителни оплаквания от стичащи се секрети (продължителни хреми);
- Влошаване на симптомите при пациенти с бронхиална астма;
- Влошаване на симптомите при пациенти с алергичен риносинусит;
- Деформация (естетична) на външния нос.

Диференциална диагноза на хроничната носна обструкция

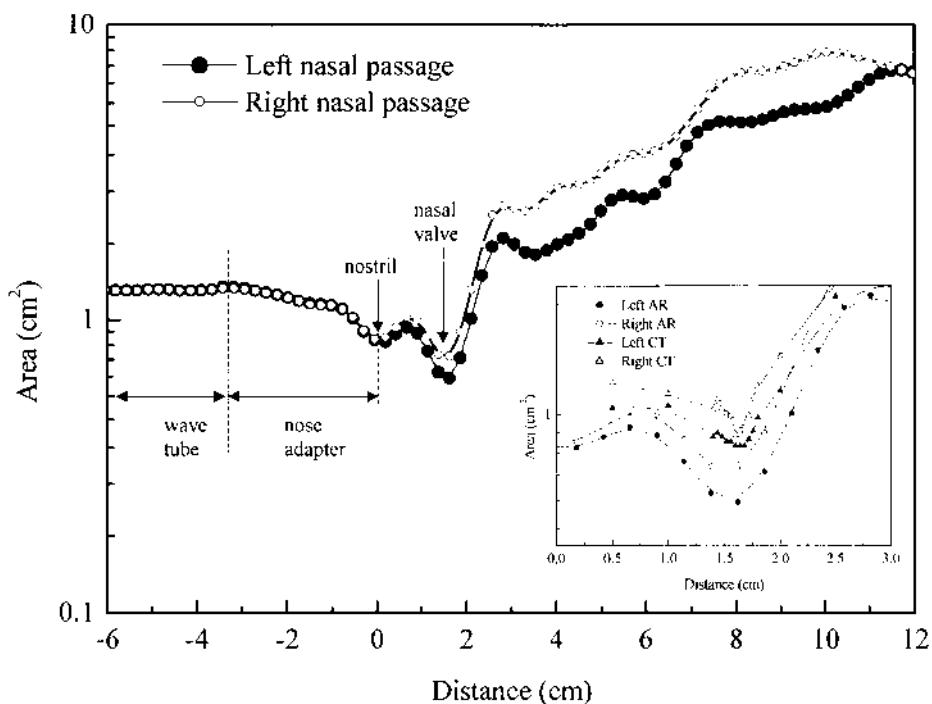
- Алергия – алергичен ринит, медикаментозен ринит;
- Вродени малформации – енцефалоцеле, глиома, тератома;
- Ендокринни – бременност, хипотироидизъм, първична (m. Addison), вторична (тумор на хипофизата) или третична(недостатъчност на АКТХ) адреналинова инсуфициенция, контрацептивни таблетки;
- Възпалителна – полипоза, хроничен риносинусит, хипертрофия на назо-фарингеалната тонзила;
- Неопластична – доброкачествени или злокачествени тумори на носа (и синусите);
- Механична – деформация на носната преграда, кол апс на носната клапа, хипертрофия на носните конхи, чуждо тяло, хоанална атрезия;
- Ятрогенни – синехии, хипер-резекция – атрофичен ринит, перфорация на носната преграда, свръх-стесняване от остеотомии.

Диагноза

- *Анамнестични данни.* Оплакванията от едностранна или двустранна носна обструкция, денем и нощем, обикновено се съпътстват от данни за чести риносинусити, упорито стичане на секрет от назофаринкса, дълго продължаващи хреми, хъркане по време на сън и синдром на сънна апнея (OSAS), алергични прояви. Операции на носа в миналото – козметични или функционални, трябва да насочват към възможни синехии, стесняване на носните ходове, липса на септален хрущял и перфорации на септума, синоназална полипоза. Чести са и пациентите с медикаментозен (локални деконгестанти) ринит, възможно е и увреждане на носните структури от употреба на наркотични вещества (кокаин и др.), хроничното приложение на естрогени (противозачатъчни медикаменти) или антихипертензивни бета-блокери.
- *Риноскопия.* Въпреки че някои деформации – на носната колумела или външния нос, дават представа и за деформациите на носния септум, предната риноскопия е от определящо значение за поставяне на диагнозата, както и за планирането на евентуална оперативна корекция. Риноскопията се прави задължително с деконгестант и локална анестезия, като внимателно се отбелязва всяка деформация, хипертрофия,

дефект, срастване в областта на септума, носните ходове и латералната стена на носа.

- *Ендоскопия на носа.* Този метод, навлязъл вече пълноценно в изследванията, проведен с деконгестант и локална анестезия дава невероятни възможности за откриване на детайли от патологичните промени, особено в проучването на остеомеаталния комплекс на средния носен ход, задните участъци на носните кухини, туморните образувания от различно естество и хроничните процеси – кървенето от носа, синуназалната полипоза, риноликвореята – травматична или спонтанна. Използваните оптики са 4 и 2.8 мм ендоскопи, с различни ъгли на полето – 0°, 30°, 45° и 70°. Ендоскопията, при наличие и на видеокамера и монитор, дава възможност за документиране на находката, както и за демонстриране на съществуващите проблеми на самия пациент.
- *Образна диагностика.* Обикновените рентгенографии отдавна не допринасят за точната диагноза, особено когато освен деформирания септум е налице и допълнителна патология на околоносните синуси. Допълнително фактът, че компютърните изследвания навлизат в практиката масово навсякъде, води до понижаване на критериите за провеждането на добри конвенционални рентгенографии. Компютърната томография (СТ) направена на съвременен апарат със съответни програми от подготвени специалисти, дава невероятни възможности за диагностиката, а и за планирането на лечението, практически при всички видове патологични процеси в областта на носа, синусите, лицевия череп. Поради факта, че основните структури на черепа са костни, ядрено-магнитният резонанс(MRI) намира място само в определени случаи, основно при съмнения за вътречерепно или вътреорбитно навлизане на процеси – туморни или полипозни, както и при определянето на определен тип мекотъканна патология.
- *Функционална диагностика.* Редица методи са описани и се използват за практическо изследване на проходимостта на носа, но най- разпространени в практиката са акустичната ринометрия и предната и задна риноманометрия. Напредъка на технологията на акустичната ринометрия определено наложи изследването като водещо, с неговото лесно и точно изпълнение, както и с краткостта на теста даваща възможност дори използването му при деца. Особено показателно е и приложението на акустичната ринометрия при патология в критичната област на носната клапа (Фиг.3) и назофаринкса (Clement 2014 :2617–25).



Фиг. 3

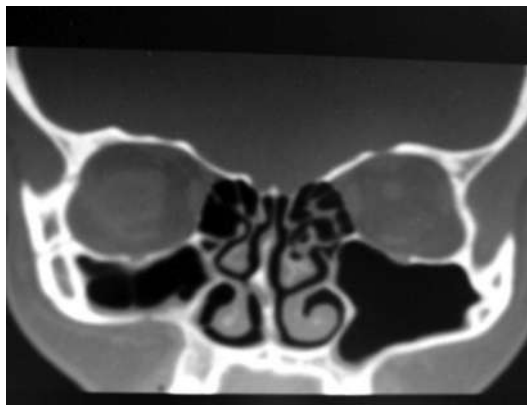
- Алергологично изследване.* Изследването на пациентите, страдащи от затруднено носно дишане, непременно трябва да бъде придружено и с изследване от алерголог за наличие на някакъв вид алергични реакции с кожни скарификационни и кръвни тестове. Абсолютно трябва да се знае, че алергичните промени на носната лигавица не могат да бъдат коригирани с оперативни интервенции, колкото и съвременни да са те. Хирургичното лечение е било и си остава симптоматично, а не етиологично. Съвременните и бъдещи варианти на имунопревенцията и имунотерапията са определящи при пациенти с определена алергия. Един вариант е алергията, придружена с носна полипоза, когато хирургичното ендоскопско отстраняване на обструктиращите полипи и полипозно деформирана лигавица помагат за по-нататъшното локално консервативно лечение.

Индикации за хирургична корекция на носната преграда

1. Септопластика като самостоятелна операция

Оплакванията на пациентите от целогодишно денонощно запушване на носа и затруднено носно дишане – с или без секрети от носа, честото стичане

на секрет от назофаринкса, хъркането по време на сън с или без симптоми на обструктивна сънна апнея и честите главоболия и напрежение в областта на лицевия череп, при липсата на ефект от краткотрайни приложения на носни деконгестанти или локални кортикостероиди са най-честите индикации за оперативната корекция на носната преграда. Тези оплаквания, подкрепени от обективната находка при риноскопия и СТ изследване, дават основание за своевременна планирана функционална консервативна септопластика.



Фиг. 4. СТ образ на деформация (кривота) на носната преграда на дясно с блокиране на остиомеаталния комплекс – причина за хипоаерация на десния максиларен синус; компенсаторна хипертрофия на левите долна и средна носни конхи.



Фиг. 5. Ендоскопски образ на деформацията (кривота) на носната преграда на дясно

Ендоскопската септопластика, с помощта на 0° и 30° ригидни ендоскопи, освен улеснение в процеса на обучение, позволява по-детайлна оценка и по-прецизна резекция на минимални фрагменти от носната преграда, и по тази причина навлиза все по-широко при оперативните корекции, особено когато се налагат в задните отдели на септума. Ендоскопията определено подпомага и проследяването на пациентите в следоперативния период (Hwang 1999:678–82).

2. Септопластиката е задължителен етап в оперативното лечение на хроничния риносинузит с полипоза



Фиг. 6. СТ- деформиран носен септум и хроничен риносинузит с полипоза



Фиг. 7. Ендоскопски образ при хроничен риносинузит и синуазална полипоза (→)

Абсолютно задължително е оперативното лечение на хроничния риносинузит да бъде комплексно– ендоскопско отстраняване на ендоназалната полипоза (фиг.7), ендоскопска антростомия с разширение на естествения отвор на максиларния синус, предна и задна етмоидектомия, като освен полипозните маси се отстранява и хронично променената непълноценна мукоза на носа и синусите. Обемът на почистване на околоносните кухини се определя от разпространението на процеса, като основна цел е осигуряване добър следоперативен дренаж на синусите към носните ходове и запазване на нормално функциониращата лигавица. Редица автори определят едно-етапната ендоскопска операция, включваща и септопластика, като условие

за по-рядко налагащи се ревизии на пациенти с хроничен риносинусит и полипоза (Chang 2014:700–7058). Компютърната томография определя също обема на операцията – от фиг.6 се вижда, че отстраняването на полипите от носа и синусите при предходна операция без корекция на носния септум води до ново блокиране на остеомеаталния комплекс и скоросен рецидив на процеса. Септопластиката трябва да е задължителен етап от повторната ендоскопска операция.

3. Септопластиката е задължителен етап при Caldwell-Luc-операция

Макар и в редки случаи, но операцията на Caldwell-Luc при максиларни синусити все още се прилага от някои хирурзи при определени пациенти. Искаме специално да отбележим, че тази процедура, освен значителните си постоперативни проблеми, не може самостоятелно да реши проблемите на болния синус – при наличие на деформирана носна преграда септопластиката трябва да бъде част от операцията.



Фиг. 8. СТ на пациент след операция на Caldwell-Luc, като девиацията на септума и блокирането на остеомеаталния комплекс води до рецидивиращи оплаквания.

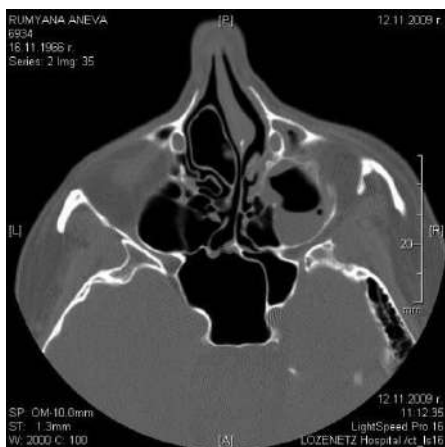


Фиг. 9. СТ-реконструкция на същия пациент, с ясно видимата девиация на септума и дефекта на предната стена на максиларния синус в дясно

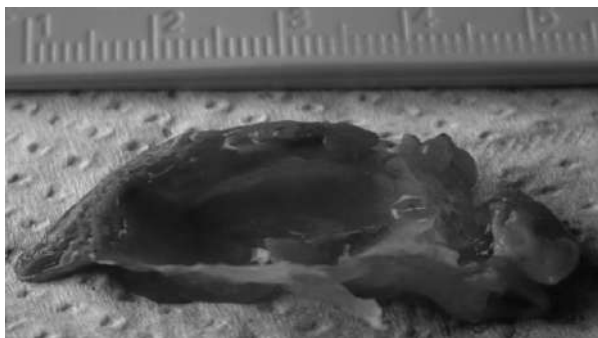
4. Септопластиката като основна процедура при третирането на носните конхи

Определянето на обема на една хирургична интервенция зависи не само от съществуването на определена патология, но и от степента на подготовка на хирурга, изпълняващ операцията. По тази причина в редица случаи на затруднено носно дишане операторите третират единствено хипертрофията на долните носни конхи – техниката е относително лесната и има малко постоперативни усложнения. Искаме да подчертаем, че оперативното лечение на затрудненото носно дишане налага комплексен подход, към всеки детайл от патологията – не само отделните конхи, а и носната преграда, която сама по себе си е предпоставка за проблемите с латералните стени на носа. По този начин септопластиката би трябвало да бъде водеща, а третирането на конхите – вторична манипулация – от латерализацията им, субмукозната диатермия, радиофреквентната хирургия и субмукозното третиране с шейвър (Egcan 2014:281–6).

Оперативното третиране на патологично променени средни носни раковини – конха булоса най-често, различни деформации, налага по-внимателен подход, с частична резекция на отделни фрагменти и налага ендоскопска хирургия.



Фиг. 10. СТ на пациентка със значителна деформация на септума и Concha bullosa, налагащи едновременно третиране на двата проблема (практически три- налага се и ендоскопска антростомия в дясно, поради блокажа на остиомеаталния комплекс и хипертрофия на мукозата на десния максиларен синус)



Фиг. 11. Частично резецираната латерална стена на булосната конха при същата пациентка, при която септопластиката самостоятелно, дори заедно с антростомия, не би могла да реши проблема със затрудненото носно дишане.

5. Септопластиката, заедно с ендоскопската антростомия, като основна процедура при лечение на одонтогенни усложнения (ороантрална фистула и одонтогенен синусит) и усложнения при поставяне на зъбни импланти

Съвременната дентална медицина е свързана с напредъка на технологиите и бележи безспорни успехи. Но успоредно с напредъка, макар и трудно за доказване, се забелязва известно увеличаване на заболяванията на околоносните кунини – като остри и хронични синусити, често протичащи с месеци, дори години. Промените в синусите не винаги могат да бъдат решавани с антибиотици и затова се налага оперативно лечение. Правилното решение е оперативното лечение да бъде водено от поне двама специалиста: по дентална медицина и оториноларинголог. Планът, който трябва да се следва, е: коригиране на дефектите и процесите в областта на венета от дентален специалист, с последваща ендоскопска операция, осигуряваща добра аерация и дренаж на засегнатия максиларен синус. Вече посочихме, че най-често ендоскопската операция е антростомия през средния носен ход и разширяване на естествения отвор на синуса и едноетапната корекция на дефектите на носния септум.



Фиг. 12. СТ на типичен одонтогенен синусит, продължаващ с месеци, с ороантрална фистула



Фиг. 13. СТ на същата пациентка, при която с едnodневна хирургия бе затворена ороантралната фистула от дентален специалист, направена ендоскопска антростомия с дренаж на синуса, септопластика и латерализация на долна носна конха.

Дългосрочните резултати при правилно планирано и проведено комплексно оперативно и консервативно лечение на одонтогенните инфекции на

максиларните (понякога и с участие на други ипсилатерални синуси) синуси са отлични.

6. Септопластиката като задължителен етап от функционалната и естетична ринопластика

Както вече подчертахме, носната преграда – особено септалния хрущял, е определяща структура за позицията, симетрията и стабилността на външния нос и хрущялната пирамида. Не биха могли да бъдат постигнати добри функционални и естетични резултати при операциите на носа ако не бъде избрана и постигната най-добрата позиция на носната преграда с помощта на функционална септопластика. Добрата позиция на преградата определя сполучливата резекцията на костно-хрущялната гърбица, положението и стабилността на носния дорзум, височината, симетрията и естетичния облик на носния връх, колумелата, ноздрите и дори крилата на носа. Всяко пренебрегване и лошо коригиране на носния септум води до редица последващи дефекти във всички отдели на носа, както и до лоши функционални резултати по отношение на дишането.

Най-лесно всичко споменато се демонстрира в случаите, когато една правилно направена септопластика сама по себе си води до отлични козметични резултати при пациентите. За добрите резултати спомага и подходящия избор на времето за операция, особено по време на пубертета, когато нарастването (неправилно) на хрущялния септум и пирамида стават водещи и в (неправилното) нарастване с последваща деформация на костната пирамида; такива деформации налагат значително по-сложна и обемна операция в последствие.



Фиг. 14а/б. 15 годишен пациент, при който силно деформираната носна преграда, блокираща носните ходове в ляво, определя и деформацията на външния нос на дясно.



Фиг. 15а/б. Същият пациент 3 месеца след септопластика; свободното дишане през двете носни половини е свързано и с медиализацията на хрущялната носна пирамида и целия външен нос.

Постигането на добри функционални и естетични резултати със септопластиката, направена в момент когато деформацията на носа не засяга все още костната пирамида, води до правилното нарастване и развитие на носа, без видими деформации. Още веднъж искаме да подчертаем, че не възрастта а наличните патологични промени са истинската индикация за оперативно лечение на носните деформации.

7. Септопластиката – необходим хирургичен етап в ендоскопското отстраняване на доброкачествени и злокачествени туморни процеси

Определящото правило при хирургичното лечение на доброкачествените и злокачествени туморни процеси в областта на носа и околоносните кухини е радикалното отстраняване на процесите. Много често деформираният носен септум пречи дори за поставяне на диагнозата, като прикрива туморния процес и затруднява вземането на биопсия. В такива случаи извършването на ендоскопски ендоназални операции за отстраняване на туморни процеси – частична резекция, антротомия, етмоидектомия, медиална максилектомия и други, значително се улеснява с провеждането на едноетапна операция, включително септопластика. От оперираните от нас случаи с инвертен папиллом на етмоидалната област септопластиката бе процедура определено облекчаваща хирургичния достъп, а в последствие и допринесла за постоперативния период без усложнения.



Фиг. 16а/б. Инвертен папилом в областта на етмоидалния лабиринт в ляво, пасивно блокиращ ипсилатералния остиомеатален комплекс. Туморът бе отстранен с ендоскопска етмоидектомия и септопластика на един етап.

8. Хирургичното лечение на риноликворея

Най-честите причини за риноликвореята са травмите, включително ятрогенните. С навлизането на ендоназалните хирургични манипулации се увеличава броят на настъпилите постоперативни усложнения, често и поради неадекватните и недостатъчни тренировъчни програми на обучаващите се. Едно от сериозните усложнения, потенциално заплашващо живота на пациентите, е образуването на дефект в областта на lamina cribrosa на етмоидалната кост и последвалата ликворея. Риноликворея, макар и рядко, може да настъпи спонтанно, поради увеличено интракраниално налягане или поради неясни причини. Във всички случаи се налага оперативно лечение, със или без лумбален дренаж за намаляване на ликворното налягане, като една от много използваните техники е със свободна fascia lata– автографт, с формирането и ротацията на допълнителни ламба по съседство– най-често хрущял заедно с перихондриум и мукоза от носния септум.



Фиг. 17а/б. Пациентка със спонтанно настъпила риноликворея, доказана лабораторно, и потвърдена с СТ, от в дясно, лекувана за алергичен ринит в продължение на две години.

9. Септопластиката- метод за третиране на рецидивиращи епистаксиси

Рецидивиращите кръвоизливи от носа се много чест симптом както в детската, така и в напредналата възраст, и понякога могат да доведат до анемизиране на пациентите. Причините за епистаксиса са многообразни и лечението им изисква индивидуален подход в зависимост от тях, най-често консервативен. Все пак, известна патология налага и оперативен подход – това са малки или големи хемангиоми на септума (кървящи полипи) или значително изразени артерио-венозни сплетения, неповлияващи се от химическата или термична коагулация. И в двата случая се налага отстраняването им посредством септопластика с последваща ротация на муко-перихондриални ламба по съседство.

При наличие на пациент, най-често възрастни хора, с активен или рецидивиращ епистаксис и силно деформирана носна преграда, септопластиката е индицирана като етап в осигуряване на визуализация и ендоскопска терапия (каутеризация или поставяне на клипс) за а. Sphenopalatina при навлизането в носната кухина, зад задния полюс на средната носна конха.

По-различен е подхода при болестта на Osler-Weber-Rendu (hereditary hemorrhagic telangiectasia), когато в определени и неповлияващи се от консервативната (с естрогенови мази) или лазер- терапия случаи може да се изпълни септопластика с трансплантат от свободна кожа.

10. Септопластиката като оперативен достъп до предна и средна черепни ямки при неврохирургични случаи

Навлизането на минимално инвазивните хирургични достъпи е все по широко във всички области на хирургията, включително и неврохирургия-

та. Броят на този вид операции, с определени индикации и контраиндикации, нараства много бързо с усъвършенстването на съвременната ендоскопска видеотехника и разработката на строго специфичен инструментариум. Неврохирургичните оперативни трансептални техники за съжаление, не са в домейна на Българската оториноларингология.

Септопластика – оперативни правила и техники

Анестезия. Съвременната медицина е утвърдила общата анестезия като метод на избор за повечето оперативни интервенции и операциите на носа не правят изключение, като задължителна е общата интубационна анестезия съпроводена от инфилтративна локална анестезия с 1% лидокаин с добавен за хемостаза (1:100000) адреналин.

Оперативният достъп е много важен етап, защото внимателния и бавен достъп осигурява добра хемостаза, отлична видимост и лесно изпълнение на следващите етапи на операцията. Ендоназалният достъп има редица предимства пред външния (с трансколумеларен разрез), особено когато се налага оперативна корекция само на носната преграда. Хемитрансфикционният разрез с внимателна дисекция на съединително-тъканните участъци с малка островръха ножица и малък носен спекулум осигуряват адекватен достъп.

Разкриването на хрущялния и костен септум и деформациите им налага да се извършва посредством субперихондриални и субпериостални двустранни тунели в различните области – горни, средни и долни, които могат да бъдат свързвани и с трансептални инцизии. Преди създаването на всички необходими тунели не е възможно да бъде планирана резекцията на променените септални участъци.

Резецирането и моделирането на деформираните хрущялни и костни фрагменти на септума трябва да бъде извършвано по възможно най-консервативен начин и с голямо внимание, като основната задача е да бъдат запазени и върнати (вече моделирани) колкото е възможно повече фрагменти обратно.

Последният етап цели реконструкция на носната преграда с оглед основните поддържащи структури – септалния хрущял и кост да останат с минимални дефекти, като каудалния хрущял трябва да бъде фиксиран между медиалните крачета на долните латерални хрущяли и костната предна носна спина. Не трябва да бъдат подценявани прецизното зашиване на разреза и добротото поставане и фиксиране на силиконови шини – последен етап на оперативната интервенция.

Трябва специално да отбележим, че използването на ендоскопските методи (с 0° и 30° ендоскопи) през различните етапи на септопластиката е изключително полезно при големи носни деформации (особено в задните части на преградата) и особено в случаите на ревизии на лошо изпълнени предишни операции. Ендоскопията на носа допринася значително за прецизни ограни-

чени резекции, за проследяване на следоперативния период, както и за документация, демонстрация и обучение (Hwang 1999:678–82).

Постоперативният период при септопластиката обикновено е 7 до 10 дни, много рядко – по-продължително, с лек оток и секретирание на слуз и сукървица.

Най-чести възможни усложнения при септопластика

- Хематом на септума – между мукоперихондриума и хрущяла; макар и рядко, може да доведе до резорбирането на аваскуларния хрущял, последваща перфорация на септума и загуба на поддръжка на гърба на носа с последваща деформация на външния нос.
- Инфекция – локална, toxic shock syndrome (TSS – локална инфекция от *Staphylococcus aureus* свързана с тампонадата – фебрилитет, гадене, диария, еритродермия, хипотензия), менингит, мозъчен абсцес, тромбоза на sinus cavernosus, ендокардит е възможно усложнение, което може да бъде предотвратено с периперативното прилагане на антибиотици (Georgiou 2008:267–70).
- Риноликворея – много рядко, но много сериозно усложнение, налагащо на първо място разпознаването му; обикновено дефекта е малък (lamina cribrosa) и настъпва спонтанно възстановяване.
- Кървене от носа (epistaxis) – рядко, обикновено до края на втората седмица.
- Перфорация на септума обикновено настъпва в по-късен следоперативен период и се проявява с повтарящи се кървене от носа, формиране на корички, свиркане при дишане през носа; обикновено се налага реоперация.
- Козметични носни проблеми обикновено са резултат на много агресивна операция на носа и неадекватни и ненужни резекции на носната преграда – уувисване и спадане на върха на носа, разширяване на носните крила, ретрахирана колумела, седловидна деформация на гърба на носа.
- Аносмия – изключително рядко усложнение, обикновено преходно, поради оток на носната мукоза и неадекватни въздушни потоци през олфакторната зона на носа.
- Изтръпване на зъбите – обикновено краткотрайно

Резултати от септопластиката и прогнози

Няма много съобщения за дългосрочните резултати относно дишането през носа след корекцията на носната преграда. Нашите наблюдения съвпадат с тези на повечето автори, при чиито изследвания добрите резултати от оперативната корекция на носната преграда са около/над 70% от случаите (Siegel 2000:228–321).

Отделни съобщения са по-скептични, като дългосрочните резултати (в 5–6 годишен период) (Sundh 2014: 312–314) относно комфортното носно дишане при оперираните пациенти остава едва при около 20%, но те отдават определено значение на наличието на съпътстващи деформациите алергични и/или вазомоторни процеси.

Изводи

1. Септопластиката е основна хирургична процедура с много широко приложение в областта на хирургията на носа и синусите.
2. Основният принцип на септопластиката е минимална резекция с максимална реконструкция на всички структури.
3. Субмукозната резекция на носната преграда в класическия си вариант, описан от Killian, трябва да остане в историята на ринологията, а не в практиката.
4. Както всяка хирургична интервенция, септопластиката е свързана с определени рискове и възможни усложнения.
5. Усложненията и нежеланите последици са минимални при знаещия и със значителен опит оператор, спазващ основният принцип – реконструкция вместо резекция.
6. Много важно е хирургът да познава, разбира и успешно да се справя с всички възможни настъпили усложнения на операцията.
7. Важна част от оперативното лечение е адекватното запознаване на пациента с целите, резултатите и възможните усложнения на процедурата, както и със схематични хирургични детайли. Оформянето на информираното съгласие е крайният резултат от дискусиата на хирурга с пациента.

В заключение искаме да цитираме думите на идеолога на ринологията, Д-р Maurice Cottle: “Експерт е човек, който посредством собствения си болезнен опит е научил всички грешки, които могат да се случат в областта в която работи, но това може да отнеме повече от един човешки живот.”

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Chang C.C, C.J. Tai, T.Y. Ng, Y.A. Tsou, M.X. Tsai. Can FESS Combined with Submucosal Resection (SMR)/Septoplasty Reduce Revision Rate? *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 2014, **10**:700–705.
- [2] Clement PA, Halewyck S, Gordts F, et al. Critical evaluation of different objective techniques of nasal airway assessment: a clinical review. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014, **10**:2617–25.

- [3] Cottle MH. Newer concepts of septum surgery: present status. *Eye Ear Nose Throat Monthly*. 1948, **27**:403–429.
- [4] Ercan C, Imre A, Pinar E, Erdogan N, Umut Sakarya E, Oncel S. Comparison of submucosal resection and radiofrequency turbinate volume reduction for inferior turbinate hypertrophy: evaluation by magnetic resonance imaging. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014, **9**:281–6.
- [5] Georgiou I, Farber N, Mendes D, Winkler E. The role of antibiotics in rhinoplasty and septoplasty: a literature review. *Rhinology*. 2008, **4**:267–70.
- [6] Hinderer KH. History of septoplasty. *Fundamentals of Anatomy and Surgery of the Nose*. Aesculapis Publishing Co, Birmingham, Alabama, 1971. 1–20.
- [7] Hwang PH, McLaughlin RB, Lanza DC, Kennedy DW. Endoscopic septoplasty: indications, technique, and results. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999, **5**:678–82.
- [8] Leong SC, Chen XB, Lee HP, Wang DY. A review of the implications of computational fluid dynamic studies on nasal airflow and physiology. *Rhinology*. 2010, **2**:139–45.
- [9] McDowell F. History of rhinoplasty. *Aesthetic Plastic Surgery*. 1978, **1**:321–348.
- [10] Siegel NS, Gliklich RE, Taghizadeh F, Chang Y. Outcomes of septoplasty. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2000, **2**:228–32.
- [11] Sundh C, Sunnergren O. Long-term symptom relief after septoplasty. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014, **11**, 312–314.
- [12] Vainio-Mattila J. Correlations of nasal symptoms and signs in random sampling study. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1974, **318**:1–48.

Дата на постъпване: 24.02.2016 г.

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

АКУСТИЧНА РИНОМЕТРИЯ ПРИ ЗАТРУДНЕНО НОСНО ДИШАНЕ

ДИМИТРИНА ТОДОРОВА*, ПЕТКО КАБАКЧИЕВ

Отделение по оториноларингология, УБ „Лозенец“,
Медицински Факултет на СУ „Св.Климент Охридски“

Проблемът със затрудненото носно дишане е разгледан в 3 аспекта: деформация на носната преграда, алергични и рецидивиращи хреми с оток и хипертрофия на носните конхи, и аденоидни вегетации. На всички болни е проведено изследване с акустичен ринометър, което понастоящем се явява лесен и достоверен обективен метод за изследване на носната проходимост.

Ключови думи: акустична ринометрия, затруднено носно дишане, деформация на носния септум.

Dimitrina Todorova, Petko Kabakchiev. ACOUSTIC RHINOMETRY IN DIFFICULT NASAL BREATHING

The problem of the difficult nasal breathing has been evaluated from several points: nasal septum deformities, allergic and recurrent rhinitis with oedema and hypertrophy of the nasal turbinates, and hypertrophy of the nasopharyngeal tonsil. The evaluation of the patients has been done with Acoustic Rhinometer, proved to be an easy and reliable objective test for potency of the nasal passages.

Key words: acoustic rhinometry, difficult nasal breathing, septal deformity

* Д-р Димитрина Тодорова Едрева дм, Отделение УНГ Болести, УБ Лозенец, 1407 София, ул. „Козяк“ 1, факс: 029624771, тел: 029607351, моб: 0899595337, d3gbg@abv.bg

ВЪВЕДЕНИЕ

Носната кухина се разделя от носната преграда на две сравнително симетрични половини. Във всяка от тях на латералните им страни са разположени по три раковини (конхи), около които се завихря вдишваният въздух, за да се пречисти, затопли, овлажни и т.н. Редица структурни малформации като изкривена носна преграда, подуване и хипертрофия на носната лигавица, и заболявания – носна полипоза и аденоидни вегетации в детската възраст водят до затруднено носно дишане.

Обективно това състояние може да се обективизира чрез няколко метода, едно от които е акустична ринометрия, измерваща анатомичната плоскостна конфигурация на носната кухина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В продължение на 10 години (2004 – 2014) изследвахме и проследихме 705 болни със затруднено носно дишане, от които 82 – възрастни и 623 – деца, с различна патология на находка:

- С изкривена носна преграда бяха 37 деца и 14 възрастни;
- С алергична и вазомоторна хрема бяха 437 деца и 68 възрастни;
- С хипертрофия на долните носни конхи – 68 възрастни,
- С аденоидни вегетации – 149 деца.

По оперативен път бяха лекувани:

- С изкривена носна преграда – 14 пациента (септопластика);
- С хипертрофия на долните носни конхи – 68 пациента (електроаутеризация на долни носни конхи);
- С аденоидни вегетации – 149 деца (аденотомия).

Проследяването на всички 705 пациенти беше извършено с рутинни клинични прегледи (предна и задна риноскопия и ендоскопия) и акустична ринометрия-обективно изследване с ринометър, произведен от компанията Interacoustics (Дания, 2003). Методиката е въведена в клиничната практика от О. Hilberg и сътр. (1989:896–902). Акустично измерената дълбочина на носната кухина е 4 – 5 cm при новородени, 6 cm – при деца от 6 до 10 години и 7 до 9 cm – при възрастни. У нас методиката е въведена и разработена от Д. Вичева (2002).

Резултати

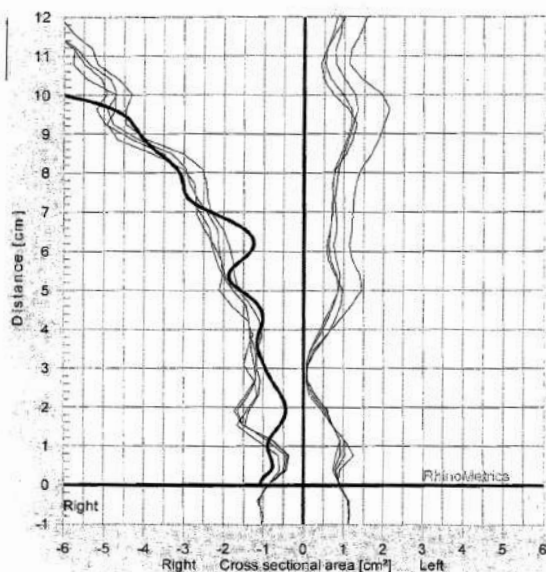
От групата пациенти с изкривена носна преграда от общо 51 само при 14 (23,5%) извършихме оперативна корекция (септопластика). (фиг. 1, фиг. 2)

Patient journal

Patient name: Банков, Георги (28г.)
 Social security no.: 28г.
 Personal journal no.: Septoplastica
 Born:
 Sex: M
 Diagnosis:

Examination journal

Title: Examination
 Created date: 29.3.2004 г. 13:34:29
 Type: RhinoScan
 Examiner:
 Software ver.: 4.0.5.0, v 3.00.Xj/v 3.0b
 Probe:

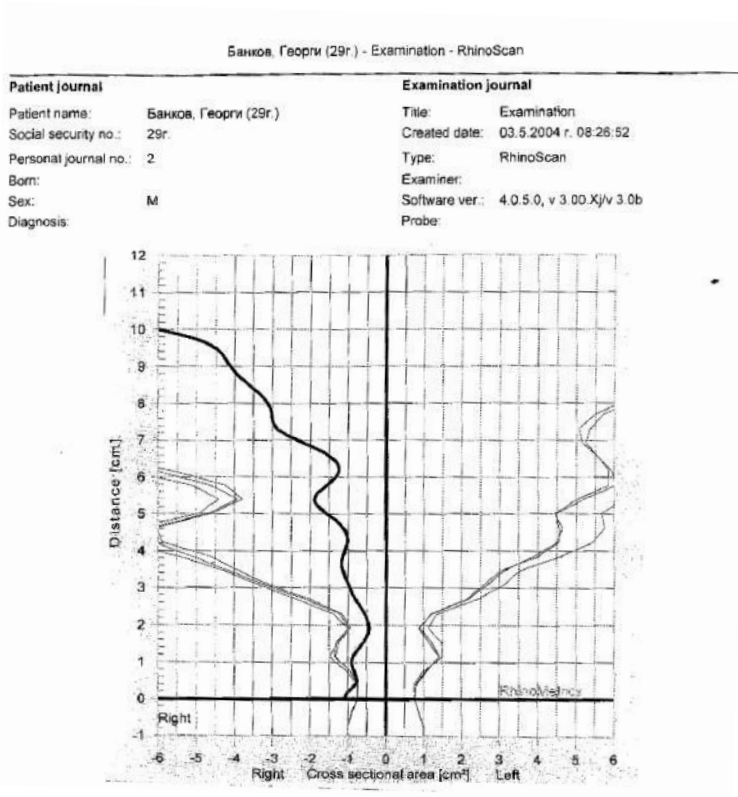


Фиг. 1. Акустична ринограма на изкривена носна преграда.

Децата с деформация на носната преграда останаха под периодично наблюдение. На всички бяха направени акустични ринограми, а на оперираните повторни изследвания на 2 – 3 месец след операцията.

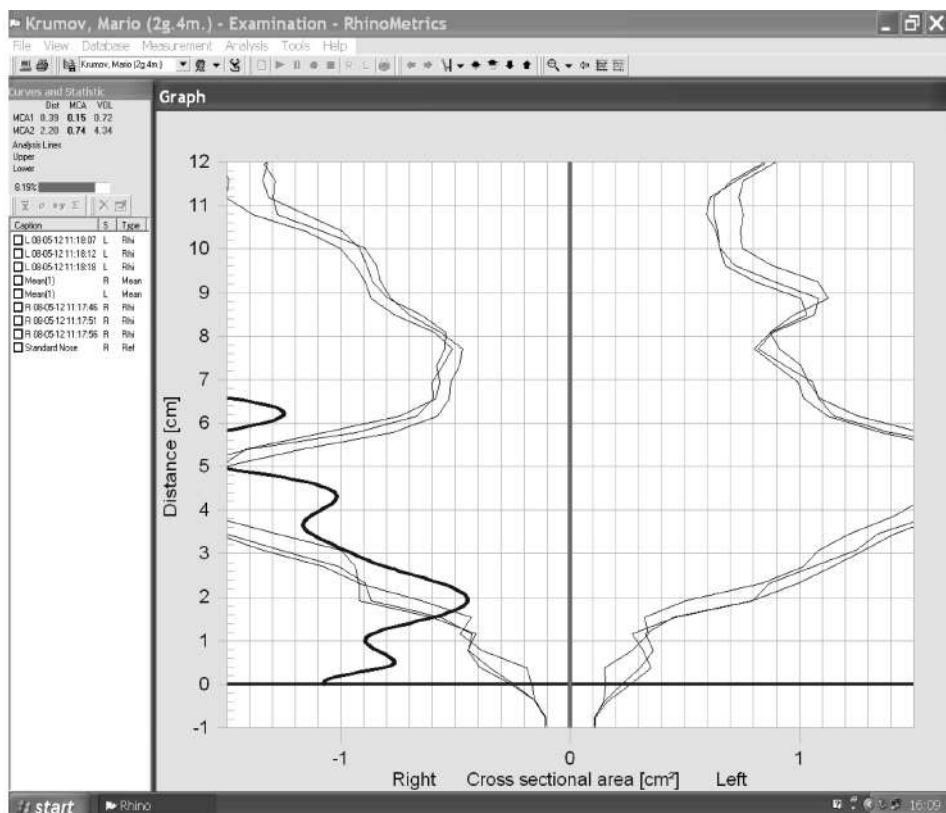
Втората група болни бяха пациенти с алергични и рецидивиращи хреми – 505. От тях 437 бяха деца, на които бе проведено консервативно противоалергично лечение.

При възрастните пациенти с алергични и рецидивиращи хреми 68 (13,4%) и поради хипертрофия на долните носни конхи, бе проведена електрокаутеризация.



Фиг. 2. Акустична ринограма на носна преграда след септопластика

Третата група бяха 149 оперирани от аденоидни вегетации деца, от които успяхме да проследим следоперативно 106. Останалите не се появиха на контролни прегледи след операция. (Фиг.3)



Фиг. 3. Акустична ринограма на голяма аденоидна вегетация.

Обсъждане

Акустичната ринометрия е бърз и безвреден метод за изследване на носната конфигурация и назофаринкса. L.F.Grymer и сътр.(1989:1180–1187) проследяват 21 болни със септопластика чрез акустична ринометрия и намират предоперативно минимален просвет в предната част на носната кухина, където най-често е тежестта на септалната деформация. В нашата група от 14 оперирани тази точка на стеснение беше на нивото на предния ръб на долната носна конха, което е близо до посочените резултати. H.J.Lio (2010:205–221) заключва, че септопластиката води до развитие на преместване на стеснената страна, може и към здравата част. При нашите болни след операция не винаги субективните прояви на подобро носно дишане се покриваха с подобрената конфигурация след изследване, както забелязва и M.D.Kemker (1999:567–571).

При групата с алергични и рецидивиращи хреми (505 болни) извършихме най-много акустични ринометрии – над 1000, защото се налагаха повече

контролни прегледи. Само при 68 извършихме оперативно лечение, докато при 437 болни се провеждаше по 2 – 3 месеца противоалергична терапия. Субективните усещания на болните и графиките от акустичната ринометрия в голяма степен съвпадаха.

При 149 оперирани деца от трета сливица, проследени 106, отчетливо беше налице клиничното подобрене и разширяване на въздушното пространство на носоглътката.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Акустичната ринометрия се явява надежден и много полезен метод в ринологията за обективизиране на конфигурацията на носа и назофаринкса. Това, заедно с пълната му безопасност и лесно и бързо приложение, налага по-широкото му навлизане в клиничната практика. Трябваше пак да отбележим, че в някои случаи се налага по-задълбочено клинично обсъждане, както и приложението на образна диагностика – СТ и/или MRI.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вичева Д. Експериментално клинично проучване на диагностичните възможности на акустичната ринометрия. Дисертация за присъждане на образователна и научна степен „доктор“, 2002, София.
2. Grymer L.F., O.Hilberg, O.Elbrond, O.F.Pedersen. Acoustic rhinometry: evaluation of the nasal cavity with septal deviations, before and after septoplasty. Laryngoscope, 99,11,1989,1180 – 1187.
3. Hilberg O., A.C.Jackson, L.D.Suif, O.F.Pedersen. Acoustic Rhinometry evaluation of the nasal cavity geometry by acoustic reflection. Journal of Appl. Physiol. 48, 1989, 5, 896 – 902.
4. Lio H.J. Outcome after nasal septoplasty. Otolaryngol. Clin. N. Am. 52, 2010, 205 – 221.
5. Kemker M.D. Effect of nasal surgery on the nasal cavity as determined by acoustic rhinometry. Otolaryngol. Head Neck Surgery. 101, 1999, 567–571.

Дата на постъпване: 24.02.2016 г.

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

VISUALIZATION OF OVERPRODUCTION OF SUPEROXIDE IN LIVING CELLS USING NITROXIDE- ENHANCED MAGNETIC RESONANCE IMAGING – NEW INSIGHT ON THE MOLECULAR NATURE OF THE FUNCTIONAL MRI

RUMIANA BAKALOVA*^{1,2}, DESSISLAVA LAZAROVA¹, GENOVEVA ZLATEVA¹,
ZHIVKO ZHELEV^{2,3,4}, LUBOMIR SPASSOV¹, ICHIO AOKI²

¹Faculty of Medicine, Sofia University “St. Kliment Ohridski”, 1 Kozyak Str., Sofia 1407, Bulgaria;

²Molecular Imaging Center, National Institute of Radiological Science, 4-9-1 Anagawa, Inage-ku, Chiba 263-8555, Japan;

³Medical Faculty, Trakia University, 11 Armejska Str., Stara Zagora 6000, Bulgaria;

⁴Institute of Biophysics & Biomedical Engineering, Bulgarian Academy of Sciences, 21 Acad. G. Bonchev Str., Sofia 1114, Bulgaria

Румяна Бакалова, Десислава Лазарова, Геновева Златева, Живко Желев, Любомир Спасов, Ичио Аоки. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ И СВРЪХПРОДУКЦИЯ НА СУПЕРОКСИДНИ РАДИКАЛИ В ЖИВИ КЛЕТКИ И НИДРОКСИДИ, УСИЛВАЩИ МАГНИТНОРЕЗОНАСНИ ИЗОБРАЖЕНИЯ – НОВ ПОГЛЕД В МОЛЕКУЛЯРНИТЕ МЕХАНИЗМИ НА ФУНКЦИОНАЛНИЯ MRI. В настоящата статия са представени резултати за ролята на супероксидния радикал в усилване на контраста в T₁– магнитно-резонансни изображения (MRI) на живи клетки и моделни системи – в присъствие и отсъствие на хидроксили (контрастни вещества), като резултат от намаляване на релаксационното време T₁.

Сврѳхпродукцията на супероксидни радикали в живи клетки беше индуцирана чрез третиране с ротенон (инхибитор на Комплекс-I на митохондриалната дихателна верига) и

* *Correspondance:* Rumiana Bakalova

Sofia University “St. Kliment Ohridski”, Faculty of Medicine, 1 Kozyak Str., Sofia 1407
Phone: 02 96 07 413, Fax: 02 96 24 771; e-mail: ra_bakalova@yahoo.com

2-метокси естрадиол (инхибитор на супероксид дисмутаза)(2-ME/Rot). МРТ изследванията бяха проведени на 7T МРТ апарат (на фантоми). Свърхпродукцията на супероксид в 2-ME/Rot-третираните клетки беше потвърдена чрез конвенционален дихидроетидиев тест. В присъствие на нитроксидни сонди (мито-ТЕМРО), интензитетът на МРТ-сигнала в 2-ME/Rot-третираните клетки беше ~30-40% по-висок, в сравнение с този в нетретираните клетки или клетъчни култури. В моделни системи (без клетки) беше установено, че супероксидът, но не и водородният пероксид, повишава интензитета на T_1 -контрастния МРТ сигнал на мито-ТЕМРО. Освен това супероксидът възстановява МРТ контраста в T_1 -изображение на мито-ТЕМРОН – неконтрастен (диамагнитен) аналог на мито-ТЕМРО.

Резултатите от тази работа откриват отделно направление за изследване на нови възможности във функционалния МРТ – детектиране на метаболитна активност при свърхпродукция на супероксид, както и при нарушения на баланса между супероксида и водородния пероксид – един много важен механизъм при изясняване на фините молекулни механизми за регулация при много патологични процеси (напр. канцерогенеза, невродегенерация, атеросклероза, възпаления и др.). Визуализацията на митохондриалната активност в реално време може да бъде решаваща за изясняване на молекулните механизми при функционалния МРТ в неговата най-широко приета дефиниция – метод за изследване на връзката между церебралния кръвен ток и нервната активност.

Ключови думи: мито-ТЕМРО, супероксиден радикал, магнитно-резонансна томография.

Here we report that superoxide radical is involved in the enhancement of T_1 -weighted magnetic resonance imaging (MRI) contrast in living cells and model systems – in the absence and presence of nitroxides as contrast substances, due to the effect of T_1 shortening.

An overproduction of superoxide in living cells was induced by treatment with rotenone (an inhibitor of Complex-I of the mitochondrial respiratory chain) and 2-methoxyestradiol (an inhibitor of superoxide dismutase)(2-ME/Rot). The MRI measurements were performed on 7T MRI (on phantoms). The overproduction of superoxide in 2-ME/Rot-treated cells was confirmed by a conventional dihydroethidium-test. In the presence of nitroxide probe (mito-TEMPO), the intensity of MRI signal in 2-ME/Rot-treated cells was ~30-40% higher, in comparison with that in non-treated cells or culture media. In model (cell-free) systems, we observed that superoxide, but not hydrogen peroxide, increased the intensity of T_1 -weighted MRI signal of mito-TEMPO. Moreover, the superoxide restored the T_1 -weighted MRI contrast of mito-ТЕМРОН – a non-contrast (diamagnetic) analogue of mito-ТЕМРО.

This report gives a direction for discovering new opportunities for functional MRI – for detection of metabolic activity, accompanied by overproduction of superoxide, as well as by disturbance of the balance between superoxide and hydrogen peroxide – a very important approach to clarify the fine molecular mechanisms in the regulation of a lot of pathologies (e.g., carcinogenesis, neurodegeneration, atherosclerosis, inflammation, etc.). The visualization of mitochondrial activity in real-time can be crucial to clarify the molecular mechanism of the functional MRI in its commonly accepted definition – as a method for detection of neurovascular coupling.

Key words: mito-TEMPO; superoxide; magnetic resonance imaging.

INTRODUCTION

Recently we reported that nitroxide-enhanced magnetic resonance imaging (MRI) allows visualising of tissue redox-activity *in vivo* in cancer models and MPTP-mouse model of Parkinson's disease (Bakalova et al., 2013: 2503–2517; Zhelev et

al., 2013: 1467–1478a, 1439–1445b). We assumed that the enhancement of MRI signal in cancerous or dopaminergic tissues is a result of abnormal production of superoxide by defective mitochondria and NADPH-oxidase complex (Figure 1-A, B). This assumption is based on the coupling between the redox-cycle of nitroxide derivatives and dynamics of their contrast properties in model systems (*in vitro*) or living objects (*in vivo/in situ*), which is indicative for suppressed production or overproduction of superoxide (Figure 1-C) (Mehlhorn, 1991: 37832–37839; Fuchs et al., 1997: 967–976; Ui et al., 2004: 2012–2017; Bobko et al., 2007: 404–412; Batinic-Haberle et al., 2010: 877–918; Davis et al., 2011: 459–468.).

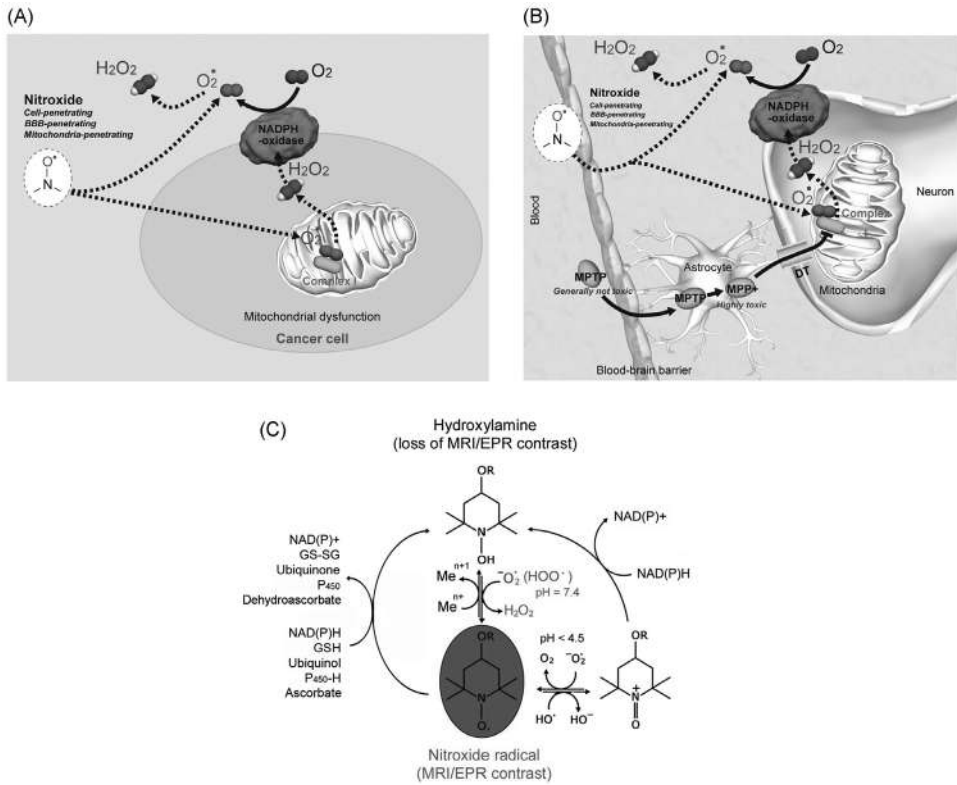


Fig. 1. (A) Molecular hypothesis for enhancement of MRI signal in metabolically (oxidatively) active cancer tissues. (B) Molecular hypothesis for enhancement of MRI signal in MPTP-affected and oxidatively active dopaminergic neurons (according to Jacksin-Lewis & Przedborski, 2007 and Zhelev et al., 2013b). (C) Coupling between nitroxide redox-cycle and MRI/EPR contrast (according to Zhelev et al., 2013a). Abbreviations: $O_2^{\cdot-}$ – superoxide radical; HOO^{\cdot} – protonated form of superoxide radical; H_2O_2 – hydrogen peroxide; HO^{\cdot} – hydroxyl radical; DT – dopamine transporter; MPP⁺ – 1-methyl-4-phenylpyridinium; MPTP – 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; Me^{n+}/Me^{n+1} – transition metal ions; GSH/ GS-SG – glutathione in reduced/oxidized form; P₄₅₀/P₄₅₀-H – cytochrome P450 in oxidized/reduced form; MRI – magnetic resonance imaging; EPR – electron paramagnetic resonance.

To verify the accuracy of this hypothesis, we applied an experimental approach and methodology for visualizing superoxide production (based on impaired mitochondrial activity), using nitroxide-enhanced MRI on cultured cells subjected to oxidative stress.

Mitochondria are considered the major source of superoxide in the cells and tissues (Pelicano et al., 2003: 37832–37839; Trachootham et al., 2009: 579–591). During oxidative phosphorylation, electrons are derived through the mitochondrial respiratory complexes, and a proton gradient is established across the inner mitochondrial membrane as an energy source for ATP synthesis (Pelicano et al., 2003: 37832–37839). When an electron escapes from the mitochondrial electron-transport chain, especially at complexes I or III, it may react with a molecular oxygen to form superoxide radical. This important biochemical event is characteristic for cancer cells, due to genetic mutations in the complexes I and/or III, triggering mitochondrial dysfunction and overproduction of superoxide (Pelicano et al., 2003: 37832–37839; Trachootham et al., 2009: 579–591; Fulda et al., 2010: 447–464). Similar mechanism is also described for MPTP-treated neurons in mice (Jackson-Lewis & Przedborski, 2007: 141–151).

Under physiological conditions, superoxide radicals can be converted to hydrogen peroxide by the superoxide dismutase (SOD). Thus, the maintenance of an appropriate level of intracellular superoxide is strongly regulated, which is important for keeping redox-balance and cellular signalling.

The simultaneous interference in both processes – stimulation of superoxide generation and suppression of its elimination via SOD, is expected to cause a severe accumulation of superoxide radicals in cells. Appropriate cellular model for such impairment of mitochondrial electro-transport chain, accompanied by overproduction of superoxide, has been described by Huang et al. (Huang et al., 2000: 390–395). The authors have used rotenone (Rot), a known inhibitor of the mitochondrial respiratory complex I, in combination with SOD inhibitor 2-methoxyestradiol (2-ME) to test their effect on cellular superoxide levels, using flow cytometry (Pelicano et al., 2003: 37832–37839). Many publications demonstrate that 2-ME induces an increased production of superoxide in cancer cells (Pelicano et al., 2003: 37832–37839; Huang et al., 2000: 390–395; Kachadourian et al., 2001: 349–353).

We used the same experimental strategy to cause overproduction of superoxide in living cells, as a result of inhibition of mitochondrial respiration (Figure 2-A), and to clarify its effect on the dynamics of nitroxide-enhanced MRI signal in cell suspensions.

Materials and Methods

Nitroxide probes

Mito-TEMPO was purchased from Enzo Life Sciences. Deionized water (Milli-Q) was used in all experiments in model systems. The buffers contained 1 mM

diethylenetriamine pentaacetate (DTPA) to avoid Fenton reactions. The chemicals were analytical or HPLC grade.

Cell culturing and treatment

Cells (Jurkat and K562) were cultured in RPMI-1640 medium, supplemented by 1% fetal bovine serum and antibiotics (penicillin/streptomycin). Twenty four hours before the experiment, the cells were replaced in a fresh medium without antibiotics. To impair mitochondrial function, the cells were incubated with 2-methoxy-estradiol (2-ME) and rotenone (Rot) at different concentrations within 24 hours. Briefly, the cells (200 μ L of 3.5×10^6 cells per mL) were incubated with 300 nM 2-ME and 250 nM Rot (1x 2-ME/Rot) in 96-well plates for 24 hours in humidified atmosphere (37 °C, 5% CO₂). In parallel, cell aliquots (200 μ L of 3.5×10^6 cells per mL) were incubated with five-fold higher concentrations of 2-ME/Rot – 1.5 μ M 2-ME and 1.25 μ M Rot (5x 2-ME/Rot) for 24 hours in humidified atmosphere. After incubation, the cell suspensions were subjected to cell viability assay using trypan blue staining and automated counting of live/dead cells (Countess® Automated Cell Counter, Invitrogen). 2-ME/Rot suppressed proliferation (~15–20%), but did not exhibit a significant cytotoxic effect within 24 hours. Cell viability was ~98–99% before the treatment and ~94–96% after the treatment.

Magnetic resonance imaging

Two hundred μ L of each cell suspension were transferred to MRI phantoms. Ten μ L of mitochondria-penetrating nitroxide probe – mito-TEMPO (final concentration 1 mM), were added to the cell suspensions for 30 min at room temperature before MRI measurement. Control samples contained: (i) non-treated cell suspensions without mito-TEMPO; (ii) 2-ME/Rot-treated cell suspensions without mito-TEMPO; (iii) mito-TEMPO (1 mM) dissolved in culture medium.

MRI measurements were performed on a 7.0 Tesla horizontal magnet (Kobelco and Jastec, Japan) interfaced to a Bruker Avance console (Bruker BioSpin, Germany) and controlled with the ParaVision 4.0.1 program (Bruker BioSpin, Germany). The phantoms were placed in the ¹H – volume radio-frequency (RF) resonator (Bruker BioSpin) with surface RF receiver (RAPID Biomedical, Germany). The resonator units were placed in the magnet bore.

The MRI measurement was performed at the following parameters: T₁-weighted MRI (spin-echo); repetition time = 250 ms; echo time = 9.6 ms; flip angle = 180 degrees; field of view = 5.2 x 4.0 cm; number of averages = 4; slice thickness = 2 mm. The MRI data were analyzed using *ParaVision* software. All data were normalized to the sample with deionized water (DIW).

Results

Cells, subjected to treatment with 2-ME/Rot (1x and 5x) for 24 hours, were characterized by a strong enhancement of T_1 -weighted MRI contrast in the presence of mito-TEMPO. The intensity of nitroxide-enhanced MRI signal in 2-ME/Rot-treated cells was about 30–40% higher than that of mito-TEMPO in culture medium (Figure 2-B2,C2). The nitroxide-enhanced MRI signal was ~10% higher even in non-treated cells (Figure 2-B2,C2). It seems that T_1 shortening effect is amplified when nitroxide is added to cancer cells.

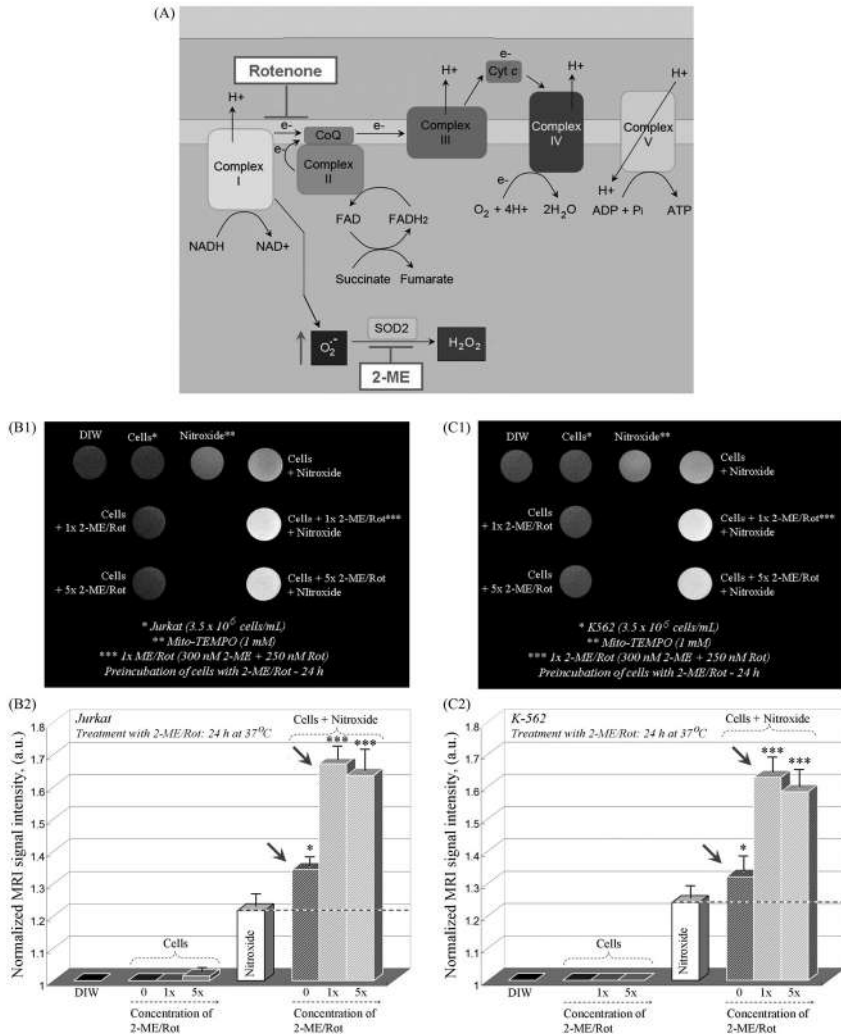


Fig. 2. (A) Biochemical strategy to enhance superoxide accumulation in cells by inhibition of mitochondrial electron transport chain and mitochondrial superoxide dismutase (SOD2) (according to Pelicano et al., 2003; Huang et al., 2000). Rotenone is a specific inhibitor of Complex-I of the

electron transport chain and impairs mitochondrial respiration. Rotenone blocks the electron flow through Complex-I and thus causes an increase in superoxide generation in the mitochondrial matrix. 2-Methoxyestradiol (2-ME) is used to inhibit superoxide elimination by mitochondrial superoxide dismutase (especially SOD2 isoenzyme), which causes a further accumulation of superoxide in the cells and strongly minimizes the production of hydrogen peroxide. **(B1, C1)** Representative (typical) MR images of cell suspensions (B – Jurkat; C – K562) before and after treatment with 2-Methoxyestradiol + Rotenone (2-ME/Rot): Cells (3.5×10^6 cells/mL) were incubated for 24 hours with 1x or 20x 2-ME/Rot (1x 2-ME/Rot: 300 nM 2-ME + 250 nM Rotenone). Non-treated cells were used as a control. Each cell suspension was separated in two MRI phantoms (in equal volumes) and mito-TEMPO (1 mM) was added to one of them. All samples were subjected to T_1 -weighted MRI (spin-echo) ~20 min after addition of mito-TEMPO. Other controls: DIW – deionised water; Nitroxide – 1 mM mito-TEMPO in cell cultured medium. **(B2, C2)** Normalized MR signal intensity of phantoms described in (B1, C1). Mean \pm SD values from six independent experiments are shown in the graphs: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ versus the MRI signal intensity of 1 mM mito-TEMPO in medium (dotted line).

To clarify additionally the effect of superoxide and hydrogen peroxide on T_1 -weighted MRI signal, we performed MRI measurements in several model (cell-free) chemical systems: (a) potassium superoxide in DIW – a system for production of superoxide radicals; (b) hydrogen peroxide; (c) mito-TEMPO plus potassium superoxide; (d) mito-TEMPO plus hydrogen peroxide. All substances were dissolved in DIW and subjected immediately to MRI under the parameters mentioned in the Materials & Methods.

It was observed that superoxide radicals increase the MRI contrast – the intensity of T_1 -weighted MRI signal was about 1.5–3.5 times higher than in pure water (Figure 3–A). The mechanism of this enhancement is physical – it is well-known that the free radicals affect the relaxivity of protons, which results in T_1 shortening (Lurie, 2003: 547–578). In contrast, hydrogen peroxide decreased the intensity of T_1 -weighted MRI signal below the level, registered in pure water (Figure 3–B). In both cases – superoxide and hydrogen peroxide, the effect on T_1 -weighted MRI contrast of DIW was concentration dependent (Figure 3–A,B). These data confirm the assumption that T_1 shortening effect of nitroxide radical is amplified in the presence of superoxide, but not in the presence of hydrogen peroxide. Moreover, hydrogen peroxide decreases the T_1 shortening effect of nitroxide radical, but only in very high concentrations (>150 mM).

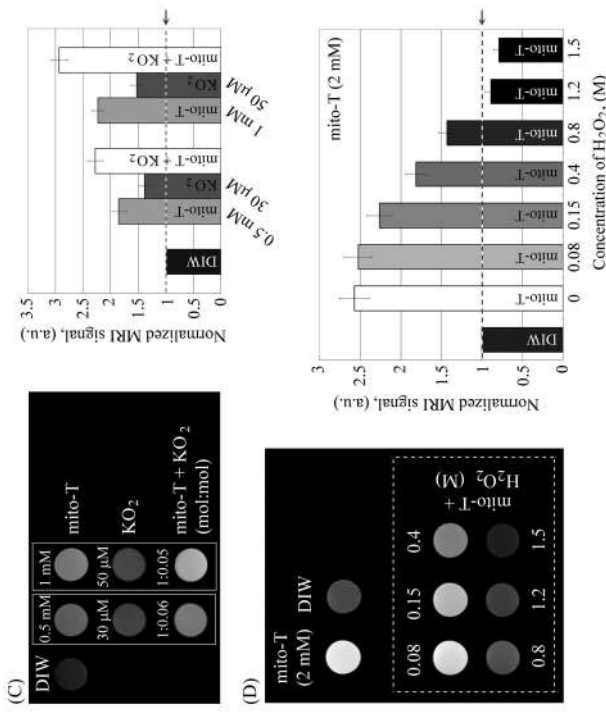
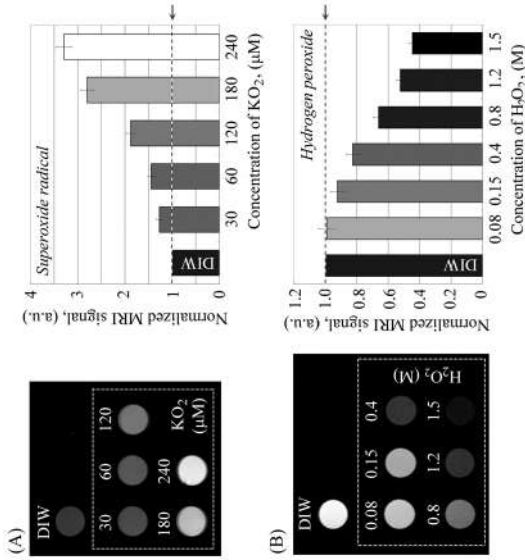


Fig. 3. Effect of superoxide and hydrogen peroxide on the intensity of T_1 -weighted MRI signal of deionised water (DIW). **(A)** Representative MR images and respective graphs, obtained on phantoms containing different concentrations of potassium superoxide in DIW – a system for generation of superoxide. **(B)** Representative MR images and respective graphs, obtained on phantoms containing different concentrations of hydrogen peroxide in DIW. **(C)** Representative MR images and respective graphs, obtained on phantoms containing $mito-TEMPO$ in the absence or presence of potassium superoxide in different concentrations; **(D)** Representative MR images and respective graphs, obtained on phantoms containing $mito-TEMPO$ in the absence or presence of hydrogen peroxide in different concentrations. Mean \pm SD values from three independent experiments are shown in all graphs. All data are normalized to the MRI signal of DIW (baseline – dotted line). Experimental conditions: $Mito-TEMPO$ was dissolved in deionized water (DIW) in the respective concentration, containing 25 μM DTPA as transition metal chelator (to avoid Fenton reactions). The samples were placed in the MRI phantoms. Potassium superoxide was dissolved in DMSO (10 mM stock solution). Commercial stock solution of hydrogen peroxide was used (~8.8 mM). Aliquots (in different volumes) of potassium superoxide or hydrogen peroxide were added to the solution of nitroxide probe, phantoms were placed in the holder and MRI imaging was started. Superoxide radicals increased also the intensity of nitroxide-enhanced MRI signal – an additive enhancement was registered for combinations ($mito-TEMPO + superoxide$) (Figure 3-C). The effect of hydrogen peroxide was opposite. In concentrations $> 0.15 M$, hydrogen peroxide decreased markedly the intensity of nitroxide-enhanced MRI signal of $mito-TEMPO$ (Figure 3-D). However, the endogenous level of hydrogen peroxide in cells, tissues and body fluids is much lower and showed not directly affect the MRI contrast *in vivo*.

Discussion

The amplification of nitroxide-enhanced MRI signal in cancer cells, characterized by overproduction of superoxide, could be very indicative about the mechanism(s) of T_1 shortening by nitroxide radical and/or superoxide radical in cell suspensions. The cancer cells (e.g., leukemic lymphocytes) are characterized by a high capacity for generation of superoxide and/or hydrogen peroxide due to their intrinsic mitochondrial dysfunction and up-regulation of NOX (Pervaiz & Clement, 2007: 1297–1304). On the other hand, it is well-known that free radicals affect the relaxivity of protons, which results in T_1 shortening by a physical mechanism (Lurie, 2003: 547–578). Therefore, the amplified signal (Figure 2-B2,C2) could be explained by two independent events that can overlapped: (i) physical enhancement of MRI signal as a direct effect of superoxide on proton relaxivity; (ii) interaction of superoxide with mito-TEMPO, which maintains the radical form of nitroxide in the cells and its direct effect of proton relaxivity.

Figure 4 demonstrates our molecular hypothesis. Endogenous or exogenous stimulus (e.g., neuronal stimulation, inflammation, “oxidative stress”, etc.) provokes metabolic activation of certain target in the organism (molecular, cellular, vascular, etc.), which is accompanied by accelerated oxygen consumption and activation of mitochondrial respiration, as well as by activation of oxidases in particular cases. Elevated levels of ROS (predominantly, superoxide and/or hydrogen peroxide) could be generated in the target locus for a short time during activation. The effect of free radicals and, in particular, superoxide radical on proton relaxivity leads to a local enhancement of T_1 -weighted MRI contrast in the activated area, while the effect of hydrogen peroxide on proton relaxivity leads to a local decrease of T_1 -weighted MRI contrast in the activated area, based on the experimental data, described in this study.

In addition, some stimulus can also provoke activation of nitric oxide synthase and accelerated generation of nitric oxide for a short time in metabolically active biological target. Nitric oxide could also affect proton relaxivity and is another possible trigger for enhancement of the MRI contrast in the activated locus. However, this assumption needs experimental verification at least on *in vitro* platform.

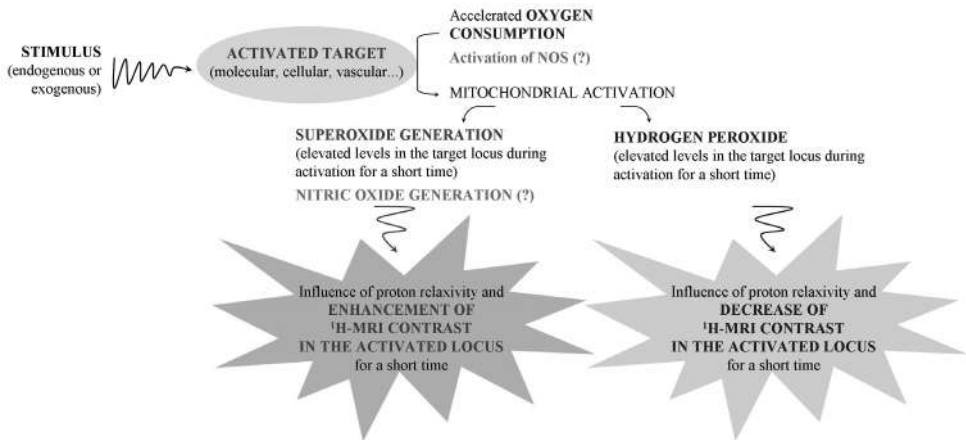


Fig. 4. Molecular hypothesis, explaining the possibility for local enhancement or decrease of T_1 -weighted MRI signal in metabolically active biological targets (cells, tissues, blood vessels, etc.).

It is well-known that superoxide and hydrogen peroxide are major mediators of the cell signalling regulation and signal transduction under activation of certain locus in the organism, which is confirmed by different redox-sensitive probes and imaging techniques, as fluorescent imaging and positron-emission tomography (Trachootham et al., 2009: 579–591; Fulda et al., 2010: 447–464; Lin et al., 2013: 19–43; Dickinson et al., 2013: 1249–1259; Hu et al., 2012: 399–412; Zhang et al., 2012: 276–286). The majority of the published studies are based on the detection of hydrogen peroxide in biological systems, because of its stability and a relatively long lifetime in living cells and tissues (Lin et al., 2013: 19–43; Dickinson et al., 2013: 1249–1259).

The simultaneous detection of the levels of hydrogen peroxide and superoxide, and assessment of the balance between these two reactive oxygen species, may be the key to clarify the trigger of neurodegeneration and carcinogenesis: “Superoxide versus hydrogen peroxide: What is the meaning of the balance in redox signaling?”

Our methodology allows visualization of the balance between superoxide and hydrogen peroxide *in vitro* and *in vivo*, which might be a key for discovering of molecular nature of cell signalling regulation and its disturbance in variety of pathologies (e.g., carcinogenesis, neurodegeneration, inflammation, autoimmune diseases, etc.). Moreover, the increased mitochondrial activity and the direct effect of the generated free radicals (e.g., superoxide, nitric oxide) and hydrogen peroxide on the relaxivity of water protons might be also a clue for discovering of the fine molecular mechanism of functional MRI in its commonly accepted definition as a method for detection of neurovascular coupling.

Conclusion

Our study demonstrates a direct involvement of superoxide radical in the enhancement of T_1 -weighted MRI contrast in model systems and living cells in the absence and presence of nitroxide contrast probes. Nitroxide-enhanced T_1 -weighted MRI (using mito-TEMPO as a contrast probe) allows visualization of overproduction of superoxide and is an appropriate technique for detection of mitochondrial dysfunction. Moreover, since hydrogen peroxide has an opposite effect on the proton relaxivity and decreases the intensity of T_1 -weighted MRI signal, this methodology allows a measurement of the balance between superoxide and hydrogen peroxide in living cells and tissues *in situ* and *in vivo*.

These two observations give a direction for discovering of new opportunities for MRI diagnostics: for example, a detection of metabolic activity, accompanied by overproduction of superoxide (and/or nitric oxide).

The real-time detection of mitochondrial dysfunction might be also a key for discovering of the molecular mechanism of functional MRI in its commonly accepted definition as a method for detection of neurovascular coupling.

Acknowledgment. The participation of Mr. Masayuki Ozawa (Molecular Imaging Center, NIRS, Japan) in the MRI measurements is gratefully acknowledged. The study was partially supported by Grant-in-Aid “Kakenhi” from the Ministry of Education, Science and Technology of Japan.

REFERENCES

- Bakalova R, Zhelev Z, Aoki I, Saga T. 2013. Tissue redox activity as a hallmark of carcinogenesis: from early to terminal stages of cancer. *Clin. Cancer Res.*, 19: 2503–2517.
- Batinic-Haberle I, Reboucas JS, Spasijevic I. 2010. Superoxide dismutase mimetics: chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. *Antioxid. Redox Signal.*, 13: 877–918.
- Bobko AA, Kirilyuk IA, Grigor’ev IA, Zweier JL, Khramtsov VV. 2007. Reversible reduction of nitroxides to hydroxylamines: the roles for ascorbate and glutathione. *Free Radic. Biol. Med.*, 42: 404–412.
- Davis RM, Matsumoto S, Brnardo M, Sowers A, Matsumoto K, Krishna MC et al. 2011. Magnetic resonance imaging of organic contrast agents in mice: capturing the whole-body redox landscape. *Free Rad. Biol. Med.*, 50: 459–468.
- Dickinson BC, Lin VS and Chang CJ. 2013. Preparation and use of MitoPY1 for imaging hydrogen peroxide in mitochondria of live cells. *Nat. Protocols*, 8: 1249–1259.
- Fuchs J, Groth N, Herrling T, Zimmer G. 1997. Electron paramagnetic resonance studies on nitroxide radical 2,2,5,5-tetramethyl-4-piperidin-1-oxyl (TEMPO) redox reactions in human skin. *Free Radic. Biol. Med.*, 22: 967–976.

- Fulda S, Galluzzi L, Kroemer G. 2010. Targeting mitochondria for cancer therapy. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 9: 447–464.
- Hu Y, Lu W, Chen G, Wang P, Chen Z, Zhou Y, Ogasawaram M, Trachootham D, Feng L, Pelicano H, Chiao PJ, Keating MJ, Garcia-Manero G and Huang P. 2012. K-ras^{G12V} transformation leads to mitochondrial dysfunction and a metabolic switch from oxidative phosphorylation to glycolysis. *Cell Res.*, 22: 399–412.
- Huang P, Feng L, Oldham EA, Keating MJ, Plunkett W. 2000. Superoxide dismutase as a target for the selective killing of cancer cells. *Nature*, 407: 390–395.
- Jackson-Lewis V, Przedborski S. 2007. Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Nat. Protocols*, 2(1): 141–151.
- Kachadourian R, Liochev SI, Cabelli DE, Patel MN, Frodovich I, Day BJ. 2001. 2-Methoxyestradiol does not inhibit superoxide dismutase. *Arch Biochem. Biophys.*, 392(2): 349–353.
- Lin VS, Dickinson BC and Chang CJ. 2013. Boronate-based fluorescent probes: Imaging hydrogen peroxide in living systems. *Meth. Enzymol.*, 526: 19–43.
- Lurie DJ. 2003. Proton-electron double-resonance imaging (PEDRI). *Biol. Magn. Res.*, 18: 547–578.
- Mehlhorn RJ. 1991. Ascorbate- and dehydroascorbic acid-mediated reduction of free radicals in the human erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 266: 2724–2731.
- Pelicano H, Feng L, Zhou Y, Carew JS, Hileman EO, Plunkett W, Keating MJ, Huang P. 2003. Inhibition of mitochondrial respiration: A novel strategy to enhance drug-induced apoptosis in human leukemia cells by a reactive oxygen species-mediated mechanism. *J. Biol. Chem.*, 278(39): 37832–37839.
- Pervaiz S and Clement MV. 2007. Superoxide anion: Oncogenic reactive oxygen species? *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39: 1297–1304.
- Trachootham D, Alexandre J, Huang P. 2009. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nat. Rev. Drug Discovery.*, 8: 579–591.
- Ui I, Okajo A, Endo K, Utsumi H, Matsumoto K. 2004. Effect of hydrogen peroxide in redox status estimation using nitroxyl spin probe. *Free Radic. Biol. Med.*, 37: 2012–2017.
- Zhang W, Trachootham D, Liu J, Chen G, Pelicano H, Garcia-Prieto C, Lu W, Burger JA, Croce CM, Plunkett W, Keating MJ and Huang P. 2012. Stromal control of cystine metabolism promotes cancer cell survival in chronic lymphocytic leukemia. *Nat. Cell Biol.*, 14: 276–286.
- Zhelev Z, Aoki I, Gadjeva V, Nikolova B, Bakalova R, Saga T. 2013a. Tissue redox activity as a sensing platform for imaging of cancer based on nitroxide redox cycle. *Eur. J. Cancer*, 49(6): 1467–1478.
- Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Lazarova D, Saga T. 2013b. Imaging of superoxide generation in the dopaminergic area of the brain in Parkinson's disease, using mito-TEMPO. *ACS Chem. Neurosci.*, 4(11): 1439–1445.

Received: 25.02.2016 г.

ГАСТРОИНТЕСТИНАЛНИ СТРОМАЛНИ ТУМОРИ НА РЕКТУМ

ВАНЯ МИТОВА*, МИРОСЛАВ ЗАШЕВ*, РАДОСВЕТ ГОРНЕВ*

* Университетска болница „Лозенец“, Клиника по обща хирургия

Гастроинтестиналните стромални тумори (ГИСТ) са редки тумори, които представляват по-малко от 1% от първичните неоплазми на гастроинтестиналния тракт (ГИТ). Те се срещат из целия стомашно-чревен тракт, но най-честата им локализация (60%) е в стомаха, обикновено във фундуса. Процентно ГИСТ се среща в другите части на ГИТ както следва: 30% в йеюнума и илеума; в дванадесетопръстника - 5%; 4% общо в колон и ректум и рядко в хранопровода и апендикса. Всички ГИС тумори се класифицират, базирайки се на 2 основни критерия: размер на тумора и митотичен индекс. Лечението на гастроинтестиналните стромални тумори е комплексно. Основното лечение е хирургичното, с или без допълнително лечение с Imatinib. Ректалните гастроинтестинални стромални тумори са една от най-рядката локализация на ГИСТ. Те са 0,1% от всички тумори, произхождащи от ректума. Представяме 92 пациенти, постъпили с тумор на ректум, от които един с доказан ГИСТ на ректум.

Ключови думи: ГИСТ, ректум, Imatinib

Vanya Mitova, Miroslav Zashhev, Radosvet Gornev. GASTROINTESTINAL STROMAL TUMORS OF THE RECTUM

Gastrointestinal stromal tumor (GIST) is a rare tumor, accounting for less than 1% of primary gastrointestinal (GI) neoplasms. The majority of GISTs (60%) are seen in the stomach, usually in the fundus. The percentages of GISTs found in other portions of GI tract are reported as 30% in jejunum and ileum, 5% in duodenum, 4% in colorectum, and rarely in the esophagus

* За контакти: Д-р Ваня Митова тел. 0895/475710 e-mail: vania_mitova@mail.bg

and appendix. Their classification is based on a size of the tumor and the mitotic rate. The main treatment of GISTs is surgical. It could be combined with or without Imatinib. Rectal GISTs make up 0.1% of all tumours originating in the rectum. We present 92 patients with a tumor of the rectum. One of them is diagnosed with GIST of the rectum.

Key words: GIST, rectum, Imatinib

Гастроинтестиналните стромални тумори (ГИСТ) са редки тумори, които представляват по-малко от 1% от първичните неоплазми на гастроинтестиналния тракт (ГИТ). Те обаче са най-често срещаните не-епителни (мезенхимни) тумори на ГИТ. (Din, Omar S., Penella J Woll, 2008 Feb; 4(1): 149–162)

Терминът „стромални тумори“ е описан за първи Mazur и Clark през 1983 г., след което от Schaldenbrand и Appleman през 1984 г. (Zhao, Xiaohui, Changjun Yue 2012 Sep; 3(3): 189–208; Mazur MT, HB Clark, 1983;7:507–19; Schaldenbrand JD, HD Appelman, 1984;15:229–32).

Според няколко епидемиологични, популационно-базирани проучвания честотата на новодиагностицираните случаи в Америка и Европа е 6 – 15 на 1 000 000 популация. (Rubin B., M. Heinrich, C. Corless, 2007;368:1731–41; Demetri G., H. Joensuu, 2008; Supplements 6; No1:1–14; Corless C., M. Heinrich, 2008;3:557–86)

Над 90% от ГИСТ се проявят при пациенти над 40-годишна възраст, а средната възраст на диагностициране е 63 години. Въпреки това, има докладвани случаи на ГИСТ във всички възрасти, включително и при деца. (Stamatakos, Michael, Emmanouel Douzinas, Charikleia Stefanaki, Panagiotis Safioleas, Electra Polyzou1, Georgia Levidou, Michael Safioleas1, 2009, 7:61). По данни от Националния регистър на Великобритания честотата на заболяемостта е 0.02 на милион деца на възраст под 14 години. Това са едни от най-обективните епидемиологични данни за случаите на ГИСТ при деца. (Stiller C. 2007). Не се открива разлика в заболяемостта от този вид тумори между двата пола. (Stamatakos, Michael, Emmanouel Douzinas, Charikleia Stefanaki, Panagiotis Safioleas, Electra Polyzou1, Georgia Levidou, Michael Safioleas1, 2009, 7:61).

ГИСТ се отдиференцират от други тумори, използвайки техния имунохистохимичен профил. Те са позитивни за: KIT (95%), CD34(60–70%), ACAT2, S100 protein, DES (desmin 1–2%) и keratin (1–2%), като KIT маркерът е най-сензитивен за този вид тумори. (Rubin B., M. Heinrich, C. Corless, 2007;368:1731–41; Куртев, Панайот, Галина Куртева, 2015; 132–140).

Гастроинтестиналните стромални тумори се срещат из целия гастроинтестинален тракт, но най-честата им локализация (60%) е в стомаха, обикновено във фундуса. (Zhao, Xiaohui, Changjun Yue, 2012 Sep; 3(3): 189–208; Nilsson B, P. Bummig, JM Meis-Kindblom, et al. 2005;103:821–9). Процентно ГИСТ се среща в другите части на стомашно-чревния тракт както следва: 30% в

йеюнума и илеума; в дванадесетопръстника – 5%; 4% общо в колон и ректум и рядко в хранопровода и апендикса (Zhao, Xiaohui, Changjun Yue, 2012 Sep; 3(3): 189–208; DeMatteo RP, JJ Lewis, D. Leung et al. 2000;231:51–8)

Редица проучвания се опитват да класифицират ГИС туморите, така че да може да се определи техният малигнен потенциал. Всички те се базират на 2 основни критерия: размер на тумора и митотичен индекс. Според Guideline за оценка на злокачественост на ГИСТ, модифициран от Miettinen и съавтори, ГИСТ се разделят на: по-вероятно доброкачествени, злокачествени и такива с несигурен или нисък малигнен потенциал. (Табл.1) (Miettinen M, W. El-Rifai, J. Lasota, LH Sobin 2002, 33, 478–483).

Табл. 1. Ръководство за оценка на злокачественост на ГИСТ. Модифицирано от Miettinen et al. (Miettinen M, W. El-Rifai, J. Lasota, LH Sobin 2002, 33, 478–483).

<p>По-вероятно доброкачествени:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Интестинални тумори Максимален диаметър < 2см. и не повече от 5 митози на 50 HPF • Стомашни тумори Максимален диаметър < 5см. и не повече от 5 митози на 50 HPF
<p>Злокачествени:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Интестинални тумори Максимален диаметър над 5см. и повече от 5 митози на 50 HPF • Стомашни тумори Максимален диаметър над 10 см. и повече от 5 митози на 50 HPF
<p>Несигурен или нисък малигнен потенциал:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Интестинални тумори Максимален диаметър 2 – 5см. и не повече от 5 митози на 50 HPF • Стомашни тумори Максимален диаметър 5 – 10 см. и не повече от 5 митози на 50 HPF

От своя страна **National Cancer Institute** създава **консенсусна класификация** за стратифициране на риска от агресивен клиничен ход на заболяването. Съгласно нея туморите отново в зависимост от размера на тумора и митотичния индекс се разделят на такива: с много нисък, нисък, среден и висок риск от агресивен клиничен ход. Тази класификация не разделя туморите на доброкачествени и злокачествени. (Joensuu H. 2008 Oct;39(10):1411–9)

Табл. 2. Определяне на агресивността на ГИСТ (Eisenberg BL, I. Judson, 2004:465–475)

Риск	Размер	Брой митози
Много нисък	<2 см	< 5/50 HPF
Нисък	2–5 см	< 5/50 HPF
	<5	6–10/50 HPF
Среден	5–10 см	< 5/50 HPF
	>5 см	> 5/50 HPF
Висок	>10см	Всеки митотичен индекс
	Всеки размер	> 10/50 HPF

По-късно се установява, че има и други фактори, които могат да имат негативно влияние върху свободната от заболяване преживяемост. Такива са локализация, епилоидна или смесена хистология, мукозна инвазия, улцерации, туморна руптура и др. (Куртев, Панайот, Галина Куртева, 2015; 132–140).

Лечението на гастроинтестиналните стромални тумори е комплексно. То се изготвя от мултидисциплинарен екип. Основното лечение е хирургично, с или без допълнително лечение с Imatinib. ГИСТ рядко метастазират в лимфните възли (Gold JS, M. Gonen, A. Gutierrez et al. 2009;10:1045–52) и следователно регионална лимфна дисекция при тези тумори обикновено не е необходима. В някои случаи органосъхраняващи резекции (сегментни резекции) също са издържани онкологично. Въпреки това, при около 40–90% от пациентите, лекувани хирургично, се наблюдават рецидиви (Rossi CR, S. Mocellin, R. Mencarelli et al. 2003;107:171–6).

Приблизително при 50% от пациентите, при които е проведено радикална операция на първичен ГИСТ, преживяват до 5-тата година. (Blay J, P. Reichardt, 2009;9(6):831–838).

Революция при лечението на ГИСТ е приложението на Imatinib. За първи път се прилага при пациенти с напреднали и не-резектабилни гастроинтестинални стромални тумори през 2000г. (Joensuu H, PJ Roberts, M. Sarlomo-Rikala et al. 2001;344:1052–6)

Imatinib mesylate (Imatinib) всъщност представлява перорален конкурентен инхибитор на тирозин кинази, свързани с KIT протеина, ABL и рецептори на растежни фактори, получени от тромбоцити.

В съвременната практика Imatinib се използва както като неoadювантна, така и като адювантна терапия при пациенти с ГИСТ.

ГИСТ на ректум

Ректалните гатроинтестинални стромални тумори са една от най-рядката локализация на ГИСТ. Те са 0,1% от всички тумори, произхождащи от ректума. Според едно скорошно епидемиологично изследване, проведено в

САЩ, тяхната честота е 6,8 на милион души годишно. (Nello Grassi, Calogero Cipolla, Adriana Torcivia, Stefano Mandalà, Giuseppa Graceffa, Alessandro Bottino, Federica Latteri. 2008; 14(8): 1302–1304)

Miettinen и съавтори доказаха, че експресията на CD34 при ректалните гастроинтестинални стромални тумори е 92%, за разлика от останалите, като например тънкочревните, при които тази експресия е едва 50%. (Miettinen M, LH Sobin, M. Sarlomo-Rikala. 2000; 13: 1134–1142)

Симптомите при ГИСТ на ректум обикновено не се различават от тези на други ректални тумори. Диагностично подходът е същият, както при всяка друга туморна формация в ректум. Предоперативната биопсия играе ключова роля при диагностицирането на ГИСТ, тъй като дава информация на имунохистохимичните характеристики и броя на митозите. Това от своя страна определя малигненият потенциал на формацията и евентуалната нужда от неoadювантна терапия с Imatinib. Много често при пациенти, без предварителна имунохистохимична верификация, се преминава към оперативно лечение, включващо дори ампутация на ректум, което всъщност може да бъде избегнато.

При гастроинтестиналните стромални тумори на ректум могат да се извършват различни по обем оперативни процедури, с това число локална екцизия, предна резекция на ректума и абдомино-перинеална резекция. Изборът на процедура зависи от размера на тумора и местоположението (Miettinen M, M. Furlong, M. Sarlomo-Rikala, A. Burke, LH Sobin, J. Lasota. 2001; 25: 1121–1133; Shibata Y, T. Ueda, H. Seki, N. Yagihashi, 2001; 13: 283–286).

Предоперативното стадиране и подходът към пациентите с ГИСТ на ректум е определящ. Blesius и сътрудници (Blesius A, PA Cassier, F. Bertucci et al. 2011;15:72) докладват, че до 36% от пациентите, при които се наблюдава локално напреднал неметастазирал ГИСТ на ректум и са определени като неоперабилни, след нео-адювантна терапия с Imatinib, претърпят операция от същите лекари, които първоначално са били твърдо против оперативното лечение.

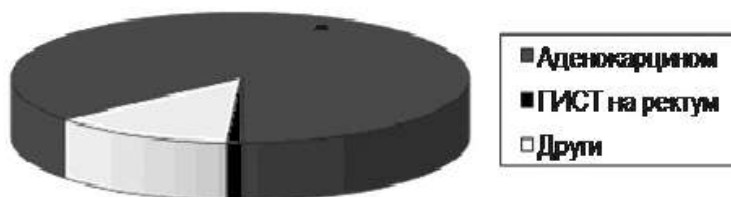
Нео-адювантната терапия с Imatinib е доказано, че улеснява и позволява запазване на сфинктерния апарат без компромис за оптимален локален контрол при пациенти с ректален ГИСТ (Wang JP, T. Wang, MJ Huang, L. Wang, L. Kang, XJ Wu. 2011;34:314–316). Тези данни потвърждават необходимостта от нео-адювантна терапия, особено при пациенти, считани за неоперабилни или такива, при които се обмисля абдомино-перинеална резекция (Mohamad Farid, Marcus Jin Fu Lee, Min Hoe Chew, Whee Sze Ong, Alisa Noor Hidayah Sairi, Kian Fong Foo, Su Pin Choo, Wen Hsin Koo, Simon Ong, Poh Koon Koh, Richard Quek. 2013 Jan; 1(1): 190–194).

Така неoadювантното прилагане на Imatinib се последва от оперативно лечение след постигане на максимален отговор средно 3–6 месеца според NCCN (National Comprehensive Cancer Network) или 6–12 месеца според ESMO (European Society for Medical Oncology). (NCCN Clinicak practice Guidline in Oncology; V.2.2009)

Освен като неoadювантна, Imatinib се прилага и като адювантна терапия в доза 400 или 800мг дневно, като продължителността на лечението е неопределено дълго.

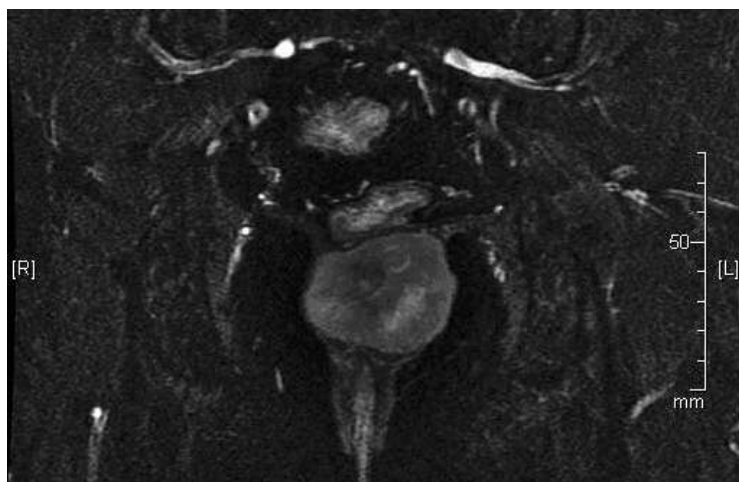
Нашият опит:

За период от 5 години /януари, 2010 – май, 2015/ в нашата клиника са постъпили 92 пациенти с тумор на ректум. От тях 86% са с хистологична диагноза аденокарцином. От докладваните случаи само един е с хистологична характеристика на гастроинтестинален стромален тумор на ректум, което отговаря на 1,08% от общия брой.



Фиг. 1 Хистологичното разпределение на туморите на ректума

Пациентът беше диагностициран след проведена фиброколоноскопия с биопсия, при която се установи наличие на туморна формация в ректум на отстояние 2 см от linea dentata. Имунохистохимичните изследвания потвърдиха диагноза: ГИСТ на ректум с ниска митотична активност (по-малко от 5 митози на зрително поле). След допълнителни образни изследвания (КАТ и ЯМР) и определяне размерът на тумора (65/53мм), пациентът се оцени като такъв със среден риск (5–10см; < 5/50 HPF) за агресивен клиничен ход на заболяването (стадиран според консенсусната класификация на National Cancer Institute).



Фиг. 2
ЯМР преди
неoadювантното
лечение с Imatinib

На онкологичен комитет се взе решение за провеждане на неoadювантна терапия с Imatinib за период 6–12 месеца и последваща оценка за оперативно лечение.

Контролните образни изследвания показват значителна редукция на тумора (до 32мм), което вече позволява органосъхраняваща операция след приключване на 12-месечния курс с Imatinib.



Фиг. 3. ЯМР след неoadювантното лечение с Imatinib

Изводи:

1. Ректалните ГИСТ тумори са изключително редки, въпреки това те трябва да бъдат включени в диференциалната диагноза при данни за тумор в ректума.

2. Липсата на големи серии от пациенти затруднява оценката и стратегията за ефективното и най-щадящо лечение на този вид ректални тумори.

3. Решението за необходимия обем на хирургична резекция и показанията за неoadювантна и/или адювантна терапия с Imatinib е ключов момент в лечение на пациентите с ГИСТ на ректум.

4. Хирургичното лечение на ГИСТ на ректума е основен метод на избор, но не винаги първа линия на лечение.

5. Imatinib е високо специфична таргетна терапия при лечение на гастроинтестиналните стромални тумори, включително и при ГИСТ на ректум, с доказано удължаване на преживяемостта.

ЛИТЕРАТУРА

- Blay J, P. Reichardt. Advances gastrointestinal stromal tumor in Europe: a review of updated treatment recommendation. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2009;9(6):831–838.
- Blesius A, P. Cassier, F. Bertucci et al. Neoadjuvant imatinib in patients with locally advanced non metastatic GIST in the prospective BFR14 trial. *BMC Cancer.* 2011;15:72. [PMC free article] [PubMed]
- Corless C., M. Heinrich, Molecular pathology of gastrointestinal stromal sarcomas, *Annu Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2008;3:557–86
- DeMatteo RP, JJ Lewis, D. Leung et al. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg* 2000;231:51–8 [PMC free article] [PubMed]
- Demetri G., H. Joensuu. Systematic treatment of patients with gastrointestinal stromal tumour: Current status and future opportunities, *EJC* 2008; Supplements 6; No1:1–14
- Eisenberg BL, I. Judson, 2004. Surgery and imatinib in the management of GIST: emerging approaches to adjuvant and neoadjuvant therapy. *Ann Surg Oncol*; 11: 465–475
- Gold JS, M. Gonen, A. Gutierrez et al. Development and validation of a prognostic nomogram for recurrence-free survival after complete surgical resection of localised primary gastrointestinal stromal tumour: a retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2009;10:1045–52 [PMC free article] [PubMed]
- Joensuu H, PJ Roberts, M. Sarlomo-Rikala et al. Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 2001;344:1052–6 [PubMed]
- Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor. *Hum Pathol.* 2008 Oct;39(10):1411–9. doi: 10.1016/j.humpath.2008.06.025.
- Mazur MT, HB Clark. Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 1983;7:507–19 [PubMed]
- Michael Stamatakos, Emmanouel Douzinas, Charikleia Stefanaki, Panagiotis Safioleas, Electra Polyzou, Georgia Levidou and Michael Safioleas, Gastrointestinal stromal tumor, Review, Published: 1 August 2009 *World Journal of Surgical Oncology* 2009, 7:61 doi:10.1186/1477-7819-7-61
- Miettinen M, LH Sobin, M. Sarlomo-Rikala. Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117 (KIT). *Mod Pathol* 2000; 13: 1134–1142
- Miettinen M, M. Furlong, M. Sarlomo-Rikala, A. Burke, LH Sobin, J. Lasota. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the rectum and anus: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 144 cases. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 1121–1133
- Miettinen M, W. El-Rifai, J. Lasota, LH Sobin: Evaluation of malignancy and prognosis of gastrointestinal stromal tumors: a review. *Hum Pathol* 2002, 33, 478–483.

- Mohamad Farid, Marcus Jin Fu Lee, Min Hoe Chew, Whee Sze Ong, Alisa Noor Hidayah Sairi, Kian Fong Foo, Su Pin Choo, Wen Hsin Koo, Simon Ong, Poh Koon Koh, Richard Quek. Localized gastrointestinal stromal tumor of the rectum: An uncommon primary site with prominent disease and treatment-related morbidities. *Mol Clin Oncol*. 2013 Jan; 1(1): 190–194. Published online 2012 Sep 19. doi: 10.3892/mco.2012.25
- NCCN Clinicak practice Guidline in Oncology; Soft Tissue Sarcoma; V.2.2009.
- Nello Grassi, Calogero Cipolla, Adriana Torcivia, Stefano Mandalà, Giuseppa Graceffa, Alessandro Bottino, Federica Latteri. Gastrointestinal stromal tumour of the rectum: Report of a case and review of literature. *World J Gastroenterol* 2008 February 28; 14(8): 1302–1304 *World Journal of Gastroenterology* ISSN 1007–9327
- Nilsson B, P. Bumming, JM Meis-Kindblom, et al. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatib mesylate era--a population-based study in western Sweden. *Cancer* 2005;103:821-9 [PubMed]
- Omar S Din and Penella J Woll, Treatment of gastrointestinal stromal tumor: focus on imatinib mesylate, *Ther Clin Risk Manag*. 2008 Feb; 4(1): 149–162. Published online 2008 Feb.
- Rossi CR, S. Mocellin, R. Mencarelli et al. Gastrointestinal stromal tumors: from a surgical to a molecular approach. *Int J Cancer* 2003;107:171–6 [PubMed]
- Rubin B., M. Heinrich, C. Corless. Gastrointestinal stromal tumorS. *Lancet* 2007;368:1731–41
- Schalldenbrand JD, HD Appelman. Solitary solid stromal gastrointestinal tumors in von Recklinghausen's disease with minimal smooth muscle differentiation. *Hum Pathol* 1984;15:229–32 [PubMed]
- Shibata Y, T. Ueda, H. Seki, N. Yagihashi. Gastrointestinal stromal tumour of the rectum. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 283–286
- Stiller C. *Childhood cancer in Britain: incidence, survival, mortality*. Oxford University Press Oxford. 2007.
- Wang JP, T. Wang, MJ Huang, L. Wang, L. Kang, XL Wu. The role of neoadjuvant imatinib mesylate therapy in sphincter-preserving procedures for anorectal gastrointestinal stromal tumor. *Am J Clin Oncol*.2011;34:314–316. [PubMed]
- Zhao, Xiaohui, Changjun Yue. Gastrointestinal stromal tumor, *J Gastrointest Oncol*. 2012 Sep; 3(3): 189–208. doi: 10.3978/j.issn.2078–6891.2012.031
- Куртев, Панайот, Галина Куртева. Редки тумори, 2015; 132–140.

Дата на постъпване: 27.02.2016 г.

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

THYMIC MULTICELLULAR LYMPHO-STROMAL COMPLEXES AS SITES OF THYMOCYTE SELECTION: FACT OR ARTIFACT

TSVETANKA MARINOVA^{1*}, LYUBOMIR SPASSOV², MAYA MARKOVA³

¹ Department of Biology, Medical Genetics and Microbiology,

² Department of Surgery, Medical Faculty, Sofia University “St. Kliment Ohridski”,

³ Department of Biology, Medical University of Sofia

Цветанка Маринова, Любомир Спасов, Майя Маркова ТИМУСНИТЕ МНОГОКЛЕ-
ТЪЧНИ ЛИМФО-СТРОМАЛНИ КОМПЛЕКСИ КАТО МЕСТА ЗА СЕЛЕКЦИЯ НА ТИ-
МОЦИТИТЕ: ФАКТ ИЛИ АРТЕФАКТ

Тимусните комплекси от лимфоцити и стромални клетки (ЛСК) са специфично клетъчно микрообкръжение за Т-лимфоцитно пролифериране, диференциране, позитивна и негативна селекция. Наблюдения *in vitro* и *in situ* показват, че анализът на ЛСК, образувани от тимусните „откърмващи“ клетки (ТОК) и розетко-образуващите клетки (РОК) е основа за формирането на нов обещаващ подход за анализ на тимоцитното микрообкръжение. Според някои автори ЛСК са артефакт, резултат от ензимната обработка на анализираните тимусни проби. В настоящото изследване чрез светлинна, трансмисионна и сканираща електронна микроскопия установихме тимусни ЛСК *in vitro* и *in situ* у човек и мишка. Наблюдавахме *in situ* РОК от лимфоцити и централно разположени стромални клетки (макрофаги, интердигитиращи клетки, дендритни клетки или медуларни епителни клетки) и ТОК (кортикални епителни клетки, обграждащи тимоцити). ЛСК бяха морфологично и имунофеногипно хетерогенни в нормален и с патологични промени миши и човешки тимус. Комплексите, изследвани *in vitro*, бяха структурно неотличими от наблюдаваните *in situ*. Тези данни дават основание да се допусне, че наблюдаваните *in situ* ЛСК при бозайници са морфо-физиологични единици на тимуса, които се запазват *in vitro* и осигуряват микро-

* For contact: Prof. Tsvetanka Marinova, MD, PhD, DSci, Medical Faculty, Sofia Univ. “St. Kliment Ohridski” 1 Kozyak st. , tel: 00359 2 9607 414

откръжение, в което стромалните клетки повлияват Т-клетъчната онтогенеза и участват в позитивната и негативна, физиологична или патологична Т-лимфоцитна селекция.

Ключови думи: тимус, многоклетъчни комплекси, Т-клетъчна онтогенеза

The thymic lympho-stromal complexes (LSC) have been considered as a most intriguing specialized microenvironment for T-cell differentiation, maturation, positive and negative selection. *In vitro* and *in situ* observations show that LSC formed by thymic nurse cells (TNC) and rosettes (ROS) allow a promising new approach to analysis of thymocyte microenvironment. Some authors, however, discuss LSC as an artifact of preparation by enzyme dissociation of the thymus. In this study, using light, transmission and scanning electron microscopy, we demonstrated *in vitro* and *in situ* thymic LSC in mouse and human. ROS from lymphocytes and central stromal cells (macrophages, interdigitating cells, dendritic cells or medullary epithelial cells) and TNC (cortical epithelial cells which surround groups of thymocytes) were observed *in situ*. LSC were morphologically and immunophenotypically heterogeneous in normal and pathological mouse and human thymus. The complexes studied *in vitro* were structurally identical with those detected *in situ*. This suggested that mammalian LSC are morpho-physiological units of the thymus that are preserved *in vitro* and provide microenvironment in which stromal cells influence the T-cell ontogenesis and take part in the positive and negative, physiological or pathological T-lymphocytes selection.

Key words: thymus, multicellular complexes, T-cell ontogenesis

INTRODUCTION

A characteristic trait of lymphoid organs is the spatial proximity between lymphocytes and stromal cells providing their microenvironment. In the thymus, thymocyte differentiation takes place in close contact with thymic stromal cells (Blackburn 2004: 278–289; Marinova 2006: 259–264). The immature T cells are selected by multiple interactions between their TCRs and self-major histocompatibility complex (MHC) molecules expressed on thymic microenvironment (Marinova 2008: 50–58). Different types and degrees of spatial proximity and contact between the two cell types have been described (Anderson 1996: 73–99; Savino 1995: 313–318). The thymus stromal cells connected to the differentiating T lymphocytes form multicellular lympho-stromal complexes (LSC). It is generally accepted that the multicellular complexes formed by non-lymphoid thymic cells and thymocytes are two types: complexes formed by thymic nurse cells (TNC), i.e. epithelial cells of thymic cortex which surround neighboring groups of thymocytes, and thymic rosettes (ROS) in which thymocytes adhere to the surface of macrophages, epithelial cells, interdigitating-like cells, and dendritic cells, originating mainly from the thymic medulla (Guyden 2003: 1–37; Oliveira-dos-Santos 1998: 2882–2892).

The close interaction between stromal cells and differentiating T lymphocytes is most easily observed after mechanical and enzymatic dissociation which disrupts the normal structure of the thymus and produces single cells and groups of closely bound cells including lympho-stromal complexes (Wekerle 1980: 925–944). Most authors consider LSC to be important for understanding the structural basis of the functional interaction between thymocytes and stromal cells and their cross-talk (Anderson 2001:

31–40; Takahama 2006: 127–135). In pathological conditions affecting the thymus, these complexes undergo characteristic changes. In particular, they are very well represented in the leukemic thymus and play a role in experimental leukemogenesis (Marinova 2006: 259–264). However, some researchers regard lympho-stromal complexes as an artifact resulting from the enzymatic digestion (Kyewski 1986: 374–379; Toussaint-Demyelle 1990: 115–123; Toussaint-Demyelle 1991: 293–301; Wekerle 1980: 925–944). The aim of the present study on two mammalian species (human and mouse) was to observe and compare multicellular complexes obtained by mechanical and enzymatic treatment of thymus samples (*in vitro*) with those observed in thymus sections fixed to preserve the structure of the organ (*in situ*).

MATERIALS AND METHODS

All procedures included in the present study conformed to Bulgarian and European Union legislation. Samples of human thymuses removed during cardiovascular surgery were obtained from „Lozenets” Hospital, Sofia. The patients had not suffered of pathological conditions affecting the thymus. Normal and leukemic mice with chemically induced acute L1210 lymphoid leukemia were obtained from the rodent breeding facility of IMBG, Bulgarian Academy of Sciences.

To obtain lympho-stromal complexes *in vitro*, thymus samples were subjected to mechanical and enzymatic dissociation by trypsin/DNase or collagenase as described by Wekerle (1980: 925–944) and Hiramine (1996: 185–201). For *in situ* at light microscopic level, thymuses were fast-frozen immediately after their removal and cryostat sections were prepared from them. Both the isolated complexes and the sections were incubated with monoclonal anti-pan-cytokeratin antibody C1801 (Sigma-Aldrich) or monoclonal anti-HLA-DR antibody (Sigma-Aldrich, only for the human samples). After washing, some samples were subjected to indirect immunofluorescence by addition of a secondary FITC- or TRITC-conjugated antibody. The rest were processed for indirect immunoperoxidase reaction as described earlier (Marinova 2006: 259–264). The routine transmission electron microscopy was carried out according to published protocols (Marinova 2005: 14-18). For scanning electron microscopy, thymus samples were fixed for 90 min in 2,5% glutaraldehyde and postfixed for 60 min in 2% osmium tetroxide. After dehydration in an alcohol series, the samples were subjected to critical point drying in liquid CO₂ and coated with gold (Wollweber 1981: 185–189).

RESULTS

The microscopic methods used in the present study (immunofluorescence, immunoperoxidase reaction, transmission and scanning electron microscopy) revealed the presence of thymic LSC both *in vitro* and *in situ* and new structural evidence for these complexes. The complexes were morphologically and immunophenotypically heterogeneous in normal and pathological mouse and

human thymus. They were found in all thymuses from the two studied species (mouse and human, shown in Fig. 1 and 2 respectively), but were much larger and more abundant in L1210 leukemic thymuses (Fig. 1A-C). In preparations labeled for cytokeratins, the positive reaction defined the stromal cell of the complex to be epithelial (Fig. 1A, B). When human samples were labeled for HLA-DR, a molecule belonging to the human major histocompatibility complex, all types of stromal cells reacted (Fig. 2A).

In sections of human and mouse thymuses, the following types of lympho-stromal complexes could be observed *in situ*: rosettes of lymphocytes and centrally located stromal ROS cells (macrophages, interdigitating cells, dendritic cells or medullary epithelial cells) and TNC epithelial cells, i.e. cortical epithelial “nurse” cells surrounding thymocytes. The same types of LSC were observed after mechanical and enzymatic dissociation of the thymic tissue *in vitro* (Fig. 1A, 2A). Their structural features were identical to those of complexes observed *in situ*.

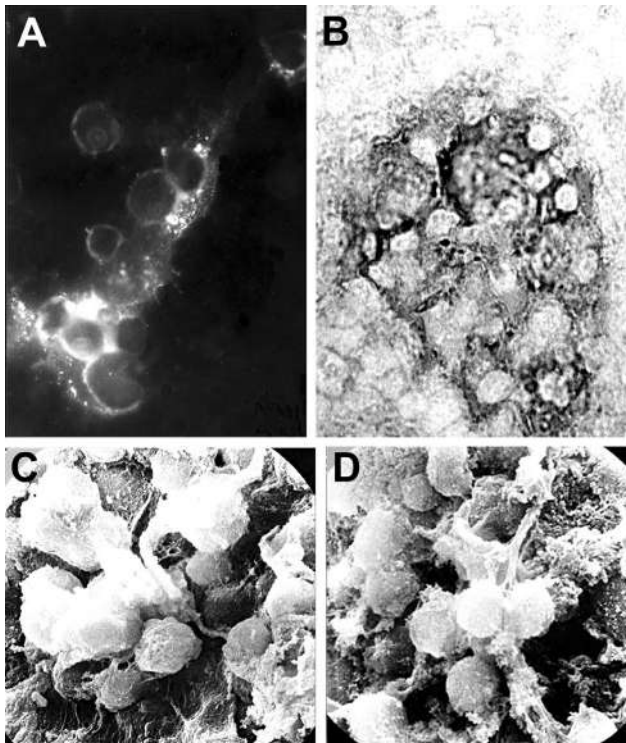


Fig. 1. LSC in mouse thymuses. **A.** TNC from a L1210 leukemic thymus, *in vitro*, immunofluorescent reaction for cytokeratins, original magnification x 1000. **B.** TNC in a L1210 leukemic thymus, *in situ*, immunoperoxidase reaction for cytokeratins, original magnification x 1000. **C.** Subcapsular LSC in a L1210 leukemic thymus, *in situ*, scanning electron microscopy, original magnification x 6500. **D.** Cortical LSC in a normal thymus, *in situ*, scanning electron microscopy, original magnification x 4400.

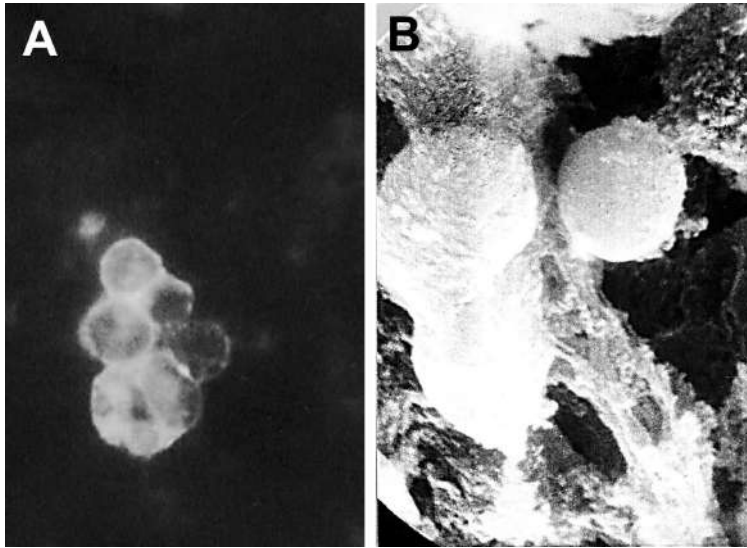


Fig. 2. LSC in human thymuses. **A.** LSC *in vitro*, immunofluorescent reaction for HLA-DR, original magnification x 1000. **B.** LSC *in situ*, scanning electron microscopy, original magnification x 8800.

DISCUSSION

The thymic lympho-stromal complexes (LSC) have been considered as a most intriguing specialized microenvironment for T-cell differentiation, maturation, positive and negative selection. *In vitro* and *in situ* observations show that LSC formed by thymic nurse cells (TNC) and rosettes (ROS) allow a promising new approach to analysis of thymocyte microenvironment. Some authors, however, discuss LSC as an artifact of preparation by enzyme dissociation of the thymus.

In this study, the observation of numerous samples from human and mouse thymuses showed that LSC studied *in vitro* after mechanical and enzymatic processing of thymus tissue are structurally indistinguishable from those observed *in situ* in sections of fixed thymuses. These data suggest that LSC in mammalian thymus do not represent an artifact resulting from the dissociation of the organ but are real structural and functional units of the thymus that exist *in vivo*, can be observed *in situ* and are preserved practically unchanged *in vitro*.

LSC are detected in all major thymus compartments, i.e. the cortex, the cortico-medullary junction and the medulla. This allows us to suppose that these complexes provide a microenvironment in which stromal cells influence early thymocyte differentiation, generation of T-cell repertoire, formation of T-cell immunophenotype and positive and negative selection. The morphological data indicating close spatial connection between thymocytes and stromal cells are in accordance with the molecular data showing that all important events during

thymocyte differentiation, i.e. the T-lineage commitment by Notch signaling, the formation of $\alpha\beta$ or $\gamma\delta$ receptor, the beta selection, the positive and the negative selection, require direct contact with distinct types of stromal cells (Marinova 2008: 50–58; Shah 2014: 4017–4023). Moreover, the observed changes in LSC accompanying T-cell pathology (e.g. the increase of their size and abundance in experimental leukemia in the present study) show that cell interaction in the complexes do not consist only of signals delivered by stromal cells to thymocytes but include cross-talk and influence of thymocytes on stromal cells bound to them.

CONCLUSION

The present study provided new structural and immunocytochemical evidence that LSC observed *in situ* are counterparts of those obtained *in vitro* in both human and mouse thymus. These data show that LSC are real and equivalent morpho-physiological units of the thymus, have a role in T-cell development and form specific thymic physiological or pathological microenvironment.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Grant № 13/2015 of the Sofia University “St. Kliment Ohridski”. We are thankful to Dr. T. Toshev from IMBG for providing the experimental animals.

REFERENCES

- Anderson, G., N. C. Moore, J. J. Owen, E. J. Jenkinson. *Annu. Rev. Immunol.*, 1996, **14**, 73–99.
- Anderson, G., E. J. Jenkinson. *Nat. Rev. Immunol.*, 2001, **1**, 1, 31–40.
- Blackburn, C. C., N. R. Manley. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, **4**, 4, 278–289.
- Guyden, J. C., M. Pezzano. *Int. Rev. Cytol.*, 2003, **223**, 1–37.
- Hiramine, C., T. Nakagawa, A. Miyauchi, K. Hojo. *Lab. Invest.*, 1996, **75**, 2, 185–201.
- Kyewski, B. A. *Immunol. Today*, 1986, **7**, 374–379.
- Marinova, Ts. *Gerontology*, 2005, **51**, 1, 14–18.
- Marinova, Ts., M. Markova, L. Aloe. *In Vivo*, 2006, **20**, 2, 259–264.
- Marinova, Ts., S. Kurten, D. Petrov, D. N. Angelov. *APMIS*, 2008, **116**, 50–58.
- Oliveira-dos-Santos, A. J., J. M. Penninger, T. Rieker-Geley, G. Matsumoto, T. M. Mak, G. Wick. *Eur. J. Immunol.*, 1998, **28**, 9, 2882–2892.
- Savino, W., V. de Mello-Coelho, M. Dardenne. *Neuroimmunomodulation*, 1995, **2**, 6, 313–318.
- Shah, D. K., J. C. Zúñiga-Pflücker. *J. Immunol.*, 2014, **192**, 9, 4017–4023
- Takahama, Y. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006, **6**, 2, 127–135.
- Toussaint-Demyllé, D., J. M. Scheiff, S. Haumon. *Cell Tissue Res.*, 1990, **261**, 1, 115–123.
- Toussaint-Demyllé, D., J. M. Scheiff, S. Haumont. *Cell Tissue Res.*, 1991, **263**, 2, 293–301.
- Wekerle, H., U. P. Ketelsen, M. Ernst. *J. Exp. Med.*, 1980, **151**, 4, 925–944.
- Wollweber, L., R. Stracke, U. Gothe. *J. Microsc.*, 1981, **121**, 2, 185–189.

Received: 28.02.2016

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

ALTERATION OF SURFACE TENSION PARAMETERS IN CLINICAL SAMPLES IN NORM AND PATHOLOGY

MAYA BANGYOZOVA¹, ALBENA JORDANOVA^{2*}, ASYA TSANOVA², VISHNYA STOYANOVA², EMILIA STOIMENOVA², YORDANKA YAMAKOVA³, ROSEN PETKOV³, KRASIMIRA IVANOVA⁴, EMILIA CHRISTOVA⁵, ZDRAVKO LALCHEV¹

1 Faculty of Biology, St. Kliment Ohridski University of Sofia, Sofia, Bulgaria

2 Faculty of Medicine, St. Kliment Ohridski University of Sofia, Sofia, Bulgaria

3 University Hospital of Pulmonary diseases „St. Sofia”, Sofia, Bulgaria

4 First Obstetrics and Gynaecology Hospital „St. Sofia”, Sofia, Bulgaria

The insufficiency of alveolar surfactant (AS) that covers the lung alveoli at the air-liquid interface, as well as deviation from its optimal biochemical composition, lead to respiratory dysfunction. Currently the clinical therapy includes the application of different native or synthetic exogenous surfactant preparations, which substitute human AS. Analyses of the composition and the properties of the alveolar surfactant are crucial for the assessment of lung maturity and function and may prove the need of surfactant therapy application.

The aim of the present study was to estimate the surface properties of lung surfactant by analyses of different clinical samples in norm and pathology: gastric aspirates from prematurely born with neonatal respiratory distress syndrome and full term infants, tracheal aspirates from patients with nonsmall cells lung cancer, and broncho-alveolar lavage from a patient with pulmonary alveolar proteinosis. By axisymmetric drop shape analysis on a pending drop surface parameters, equilibrium, maximal, and minimal surface tension (γ , mN/m), during 10 cycles of compression-decompression were determined. The results obtained showed that AS surface behavior was altered in the different pathologies leading to significant deviations in the surface tension characteristics, especially the minimal surface tension values.

* Адрес за кореспонденция: Медицински факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски“, София, България доц. Албена Йорданова jordanovaalbena@gmail.com

Key words: alveolar surfactant; surface tension; neonatal respiratory distress syndrome; nonsmall cell lung cancer; pulmonary alveolar proteinosis

Недостигът на алвеоларен сърфактант (АС), който формира повърхностно-активен филм на въздушно-водната фазова граница в алвеолите, както и отклонения от оптималния му биохимичен състав, води до респираторна дисфункция. Съвременната клинична терапия включва прилагането на различни естествени или синтетични екзогенни сърфактантни препарати, съдържащи повърхностно-активни компоненти, които се явяват заместител на естествения алвеоларен сърфактант. Бързото диагностициране на отклоненията в биохимичните и биофизични параметри са от жизнено значение за оценката на белодробната зрялост и функция, както и за навременно прилагане на екзогенна сърфактант терапия.

Целта на настоящото изследване е да се анализират повърхностните свойства на различни клинични проби в норма и патология: стомашни аспирати от преждевременно родени с неонатален респираторен дистрес синдром и здрави, доносени бебета, трахеални аспирати от пациенти с недребноклетъчен белодробен карцином и бронхо-алвеоларен лаваж от пациент с белодробна алвеоларна протеиноза. Чрез осево-симетричен анализ на всящата капка са определени повърхностните параметри на изследваните клинични проби: равновесно, максимално и минимално повърхностно напрежение (γ , mN/m), при условия на компресия-декомпресия, наподобяващи процесите в алвеолите. Получените резултати показват, че повърхностното поведение на изследваните клинични проби се променя в различна степен при различните патологии, което води до значителни отклонения в тестваните параметри, като в най-голяма степен се изменят стойностите на минималното повърхностно напрежение.

Ключови думи: алвеоларен сърфактант; повърхностно напрежение; неонатален респираторен дистрес синдром; недребноклетъчен белодробен карцином; белодробна алвеоларна протеиноза

Introduction

The alveolar surfactant (AS) is a complex mixture of phospholipids, specific proteins and small amount of carbohydrates [1–3]. AS forms a film at the alveolar air-liquid interface and its main function is to reduce the surface tension to less than 5 mN/m in exhalation [4, 5]. In addition to a low and stable surface tension, interdependence provided by the fibrous continuum enables the lung to maintain a large alveolar surface area, necessary for an efficient gas exchange as well as ensuring the lung immune defense [6].

Introduction

The alveolar surfactant AS insufficiency, as well as changes in its optimal biochemical composition and biophysical properties lead to respiratory dysfunction. One of the most severe respiratory abnormality is the neonatal respiratory distress syndrome (NRDS), which is a leading cause of the neonatal morbidity and mortality in the developed countries [7, 8]. The incidence and severity of respiratory distress syndrome are related inversely to the gestational age of the newborn infant. Enormous efforts have been made in understanding the pathophysiology and

management of NRDS, leading to improvements in morbidity and mortality in infants with the condition.

In addition, biochemical surfactant abnormalities of varying degrees have been described in obstructive lung diseases (asthma, bronchiolitis, chronic obstructive pulmonary disease, and following lung transplantation), infectious and suppurative lung diseases (cystic fibrosis, pneumonia, and human immunodeficiency virus), adult respiratory distress syndrome, pulmonary oedema, other diseases specific to infants (chronic lung disease of prematurity, and surfactant protein-B deficiency), interstitial lung diseases (sarcoidosis, idiopathic pulmonary fibrosis, and hypersensitivity pneumonitis), pulmonary alveolar proteinosis, following cardiopulmonary bypass, and in smokers [7, 8].

Nonsmall cells lung cancer (NSCLC) is the most common type of lung cancer, comprising 85 to 90% of lung cancer diagnoses. It is still unclear how NSCLC affects the AS and its behavior [9]. A number of factors can increase the risk of developing lung cancer. Smoking cigarettes or being exposed to secondhand smoke is a primary risk factor for the disease. Exposure to asbestos and certain paints or chemicals may also increase the risk.

Pulmonary alveolar proteinosis (PAP) was first described in 1958 by Rosen et al. [10] as a unique lung disorder characterized histologically by an intra-alveolar accumulation of fine granular eosinophilic and periodic acid-Schiff positive material. PAP is an extremely rare disorder, occurring worldwide with an estimated prevalence of 0.1 per 100 000 individuals. It represents a heterogeneous group of congenital, idiopathic or secondary diseases in newborns, infants and adults. Idiopathic PAP in adults is the most common form. The impaired respiratory function in PAP is caused by alveolar surfactant inactivation due to the increased amount of proteins (albumin, fibrinogen, etc.) [11]. The clinical course of the disease is variable, ranging from respiratory failure to spontaneous resolution.

The aim of the present study was to analyze the surface properties of clinical samples of different pathologies and to compare them to control groups of clinical norm samples. Moreover, by this study an attempt to demonstrate a possible application of the rapid and informative biophysical method into clinical practice for assessment of lung maturity and functioning in different pathologies was made. The clinical samples included: gastric aspirates (GAs) from NRDS babies and full term healthy infants; bronco-alveolar lavage (BAL) samples from unventilated and ventilated lung during surgery in NSCLC patients and from a control group without NSCLC; and BAL samples, collected from a male patient with pulmonary alveolar proteinosis (PAP) during 15 whole lung lavage (WLL) cycles. With this regard we determined the equilibrium, as well as the dynamic surface characteristics: maximal and minimal surface tension (γ , mN/m) during 10 cycles of compression-decompression by the pending drop method using axisymmetric drop shape analysis.

Materials and Methods

Clinical samples:

1. Gastric aspirates from newborns: The gastric aspirates were collected in the first minutes after delivery in sterile tubes via a nasogastral tube and were stored in $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. The quantity of each sample (between 2 and 5 ml) was enough for the biophysical analyzes described below.

2. Broncho-alveolar lavage from NSCLC patients: In prospective study we included 65 patients: Study group of 36 patients with NSCLC and control group of 29 patients without cancer. Surgery was performed under general anesthesia and a double lumen tube intubation. In both groups we performed broncho-alveolar lavage with 20 ml 0.9% NaCl: for the study group – from the operated (nonventilated) lung after intubation and before reventilation (in the end of hypoxia), and from ventilated lung after intubation and at the end of anesthesia; for the control group – from ventilated lung after intubation.

Anaesthesia was conducted by sevoflurane, fentanyl and atracurium bromidum. Mode of ventilation was Pressure Control Ventilation: the Inspiratory pressure ($P_{\text{insp}}=P_{\text{peak}}$) is determined by looking for a Tidal volume (V_t) 8 ml/kg, respiratory rate was 10–12/min.

3. Broncho-alveolar lavage from a patient with PAP: The whole lung lavage samples were collected from a male patient during 15 WLL cycles for both lungs. Every cycle was made with 1 liter 0.9% NaCl saline (10 ml/kg). The procedure was performed first on the right lung and seven days later on the left lung. The analyzed samples were gathered as follows:

Sample 1: mean sample after lavage with 1 liter 0.9 % NaCl saline (10 ml/kg); final lavage volume after the first cycle of the procedures: 0.8 liter BAL for the right and 1 liter BAL for the left lung.

Sample 2: taken and analyzed after 4 x 1l saline was added to sample 1; final volume after the cycle: 5l.

Sample 3: new lavage cycle with 4 x 1 liter saline for treated lung; final volume: 4 l.

Sample 4: new lavage cycle with 4 x 1 liter saline for lung; final volume: 4 l.

Sample 5: new lavage cycle with 3 x 1 liter saline for the left lung and 4 x 1 liter saline for the right lung; final volumes: 2 l and 3 l, respectively.

Pending drop method for measurements of equilibrium and dynamic surface characteristics of clinical samples: The pending drop method allows analysis of the surface behavior of small amounts (50 μ l) of the tested clinical samples. Tensiometer KSV CAM 101 (KSV Instruments Ltd., Finland) was used (Fig. 1). The determination of surface tension was performed using the Axisymmetric Drop Shape Analysis (ADSA). The setup was computer controlled by a Windows-integrated program, including the ADSA surface tension calculation algorithm. Fifteen minutes were allowed after the symmetric drop of GA formation

for adsorption of surface-active molecules at the air-water interface and reaching an equilibrium value of the surface tension, $\gamma_{\text{equilibrium}}$ (γ_{eq} , mN/m). By a camera connected to the apparatus series of pictures were taken and by ADSA γ_{eq} were determined. After recording this value the drop was subjected to 10-fold compression and decompression by specialized apparatus that imitate the inspiration/exhalation of the lung alveoli during respiration. Thus, its surface changed 5 times, from 100% to 20%. In these dynamic conditions maximal value of the surface tension at 100% drop surface (γ_{max} , mN/m) and minimal value of surface tension at 20% drop surface (γ_{min} , mN/m) were detected.

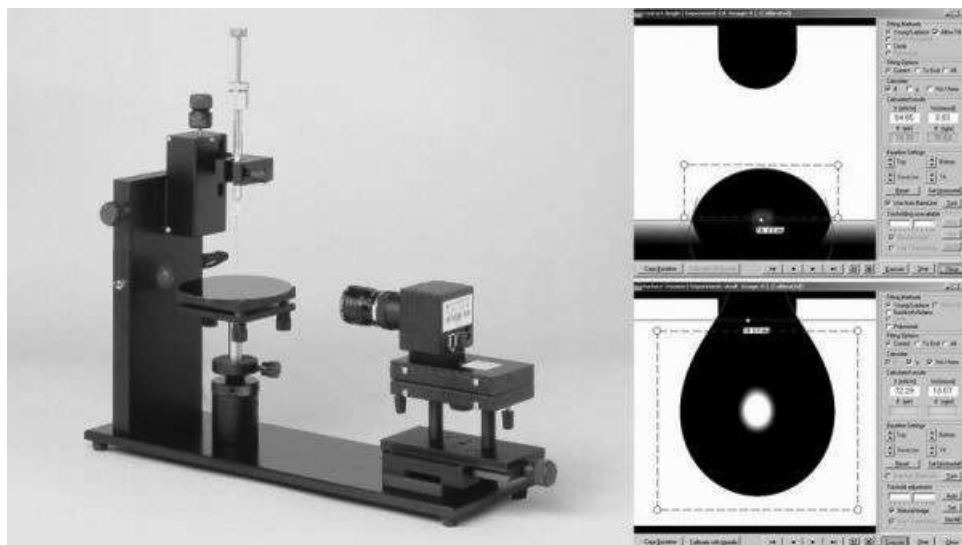


Fig. 1. Tensiometer KSV CAM 101 (KSV Instruments Ltd., Finland).

Statistic methods: For the descriptive statistics and distribution analysis Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests were used. For hypothesis testing statistic Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney test, X2 test were applied. p value <0.05 was considered to be statistically significant.

Results and Discussion

In the present study by the axisymmetric drop shape analysis on a pending drop the following surface parameters: equilibrium, maximal and minimal surface tension of different clinical samples were determined.

Analyzes of surface properties of gastric aspirates from prematurely born infants and full term healthy children

So far the characteristics of alveolar surfactant were determined in tracheal and nasopharyngeal aspirates from the infants and amniotic fluid from their mothers. The collection techniques used are invasive and traumatic, and usually provide samples of too small quantities, which significantly complicate their analyses. In contrast, gastric aspirates resemble AS composition, since the fetus swallows amniotic fluid and pulmonary fluids, secreted by lung during embryonic development [12]. The analysis of the gastric aspirates from prematurely born infants is a new, adequate and non-invasive approach. The GAs samples can be taken in the first minutes after the delivery through rapid, easy and non-invasive procedure by using of nasogastric tube.

GAs studied were distributed into two groups: 36 samples of GAs taken from healthy full term infants (control group); and 13 samples of GAs of premature infants with NRDS (NRDS group). The mean values of equilibrium surface tension were not significantly different in the two groups: 37.5 mN/m for the control group and 36.5 mN/m for the NRDS group (Fig. 2). Obviously the equilibrium surface tension, which was registered in static conditions, is not significant for AS' behaviour *in vivo*, as the physiological function of alveoli is associated with a permanent change of the surfactant monolayer surface.

In contrast to γ_{eq} the mean values of the dynamic surface characteristics of GAs were significantly different between the two groups (Fig. 2). The mean value of minimal surface tension (γ_{min}) in GAs from the healthy term infants was 6.9 mN/m, while in the group of premature infants with NRDS the mean γ_{min} was significantly higher – 19.6 mN/m, $p < 0.001$ (Fig. 2). Our results confirmed that the minimal surface tension has been proved to be a sensitive and informative parameter for evaluation of fetal and neonatal lung maturity [4, 13, 14]. Moreover, during embryonic development phospholipid amount reaches level and composition after 35 week of gestation [8]. In addition, it is well known that in conditions of compression *in vivo*, the AS can achieve very low values of γ_{min} , less than 5 mN/m [5] which is of important significance for prevention of alveolar collapse at the end of exhalation.

The results obtained for the other dynamic parameter γ_{max} showed that the mean maximal surface tension in GAs of the control group (52.0 mN/m) was not significantly different from the mean γ_{max} in the NRDS group (47.0 mN/m, Fig. 2). Unlike the minimal surface tension, we did not observe a similar tendency between γ_{max} and the development of NRDS.

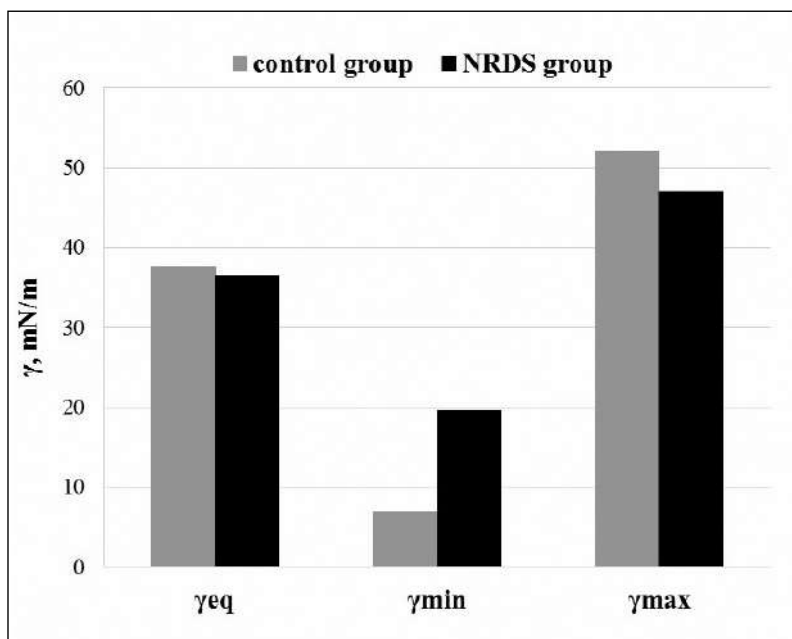


Fig. 2. Surface tension values (γ_{eq} , γ_{min} and γ_{max} , mN/m) in GAs from healthy full term infants (control group) and premature infants with NRDS (NRDS group).

Different biophysical and physicochemical techniques have been used for investigation of the role of particular surfactant components in the different stages of AS functioning. In the current study we used a new technique for assessment of the biophysical characteristics of AS. It allows to analyze small sample volumes of GAs immediately after birth without any additional processing. In addition, it takes relatively short time and its performance is feasible. Our results demonstrated that the measurement of minimal surface tension in GAs by ADSA could be used as rapid and reliable method for assessment of neonatal lung maturity.

Analyzes of surface properties of bronchial aspirates from patients with nonsmall cells lung cancer

The next group of clinical samples included 65 patients: study group with NSCLC (n=36): 11 females and 27 males with mean age 66.67 ± 9.8 and control group without NSCLC (n=29): 8 females and 21 males with mean age 60.23 ± 9.22 . The duration of the anesthesia of the study group was 165.9 ± 63 minutes. 4 patients went through intraoperative complications: 3 patients with atrium fibrillation and 1 patient with myocardial infarction, postoperative coronography and dylatation of distal segment of left anterior descending.

The bronchoalveolar lavage collected by “washout” of the lung surfactant from the surface of the alveoli, done with saline, is a total fraction of extracellular lung surfactant. It contains all the components of the extracellular alveolar surfactant (they can be fractioned according to their density).

The main role of the alveolar surfactant is to be part of the alveocapiliar barrier and to secrete lung surfactant that lower the surface tension and prevent the liquid retention in the alveoli. These high energetic processes need good oxygenation. According to Manu and Sznajder [15] hypoxia stimulates the vascular endothelium growth factor, that causes proliferation of the alveolar epithelium cells with high production of surfactant proteins. In addition, literature suggests halothane (halogen anesthetic to keep the anesthesia) causes increased synthesis of the surfactant protein C [16].

In this group of clinical samples we found a deterioration in equilibrium surface tension γ_{eq} in patients with malignant disease compared to the control group (45.27 vs. 24 mN/m, $p < 0.05$, Fig. 3). In addition, the maximal surface tension was lower in the control group than those in the study group (Fig. 3).

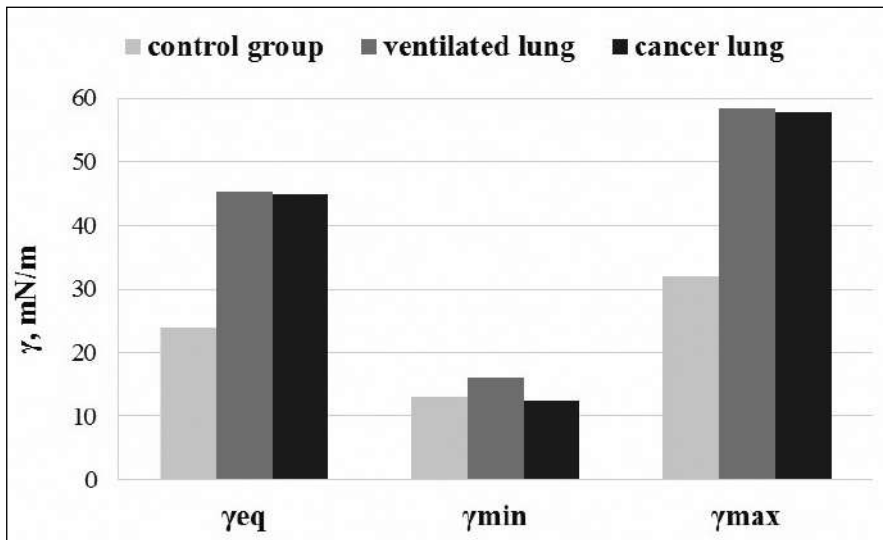


Fig. 3. Surface tension values – equilibrium (γ_{eq}), minimal (γ_{min}) and maximal (γ_{max}) of adsorption monolayers of BAL of the two groups. The samples are prepared by attenuating 3.5 ml of BAL to 25 ml using d H₂O, pH=6.8-7.0.

The existence of continuous monolayer at the air-liquid interphase of the alveoli, together with various bi- and multilayer structures are of a great interest during the past couple of years. The surface characteristics of the BAL monolayers showed no statistically significant differences in the surface tension values before and after anesthesia or before and after hypoxia at compression and decompression of the

BAL monolayers (results currently not shown) [17]. However, a higher quantity of protein in the pulmonary surfactant in the end of the anesthesia in the ventilated, a higher quantity of protein after the hypoxia in the operated lung, a higher quantity of phospholipids in the pulmonary surfactant at the end of the anesthesia in the ventilated lung, and a higher quantity of phospholipids after the hypoxia in the operated lung were found.

Patients with lung carcinoma have higher comorbidity and more post-operative complications compared to patients without lung carcinoma (Table 1).

Table 1. Postoperative complications of the two groups.

Postoperative complications	Study group (n=36)	Control group (n=29)
Hipoventilation	7	3
Pneumonia	1	0
Rhythm	5	1

The results obtained showed that hypoxia and inhalation anesthesia affects the structure and the functional properties of the lung surfactant. Equilibrium and maximal values of the surface tension were higher in the patients with lung carcinoma, which corresponds to poor spreading of the surface-active components in the alveolar surfactant at air-liquid interface under conditions of oxygen deficiency. The established changes in the biophysical characteristics of the lung surfactant in the conditions of hypoxia and anesthesia enriched the knowledge of the structure and function of the lung surfactant. Hypoxia and anesthesia have influence on the function of the lung surfactant although this does not lead to reducing the surface tension which would have theoretical and practical use.

Analyzes of surface properties of clinical samples from patients with pulmonary alveolar proteinosis

The third group of clinical samples included broncho-alveolar lavage from a patient with PAP. We compared the biophysical characteristics of samples taken during the different stages of the applied WLL procedure. The onset of clinical disease is insidious, with a subacute indolent course that often delays the diagnosis by months to years [18]. This delay is secondary to the time required for sufficient surfactant accumulation in the alveoli to impair gas exchange. In fact, decreased clearance of surfactant from the alveoli has been postulated as the basis of PAP pathogenesis [19].

Whole lung lavage, introduced by Jose Ramirez-Rivera in the late 1960s, is still the gold-standard therapy [20]. Indeed, this technique has been much improved

over the years, thus enhancing effective removal of material from the alveoli. WLL involves the induction of general anesthesia followed by isolation of the two lungs with a double-lumen endotracheal tube and performance of single-lung ventilation while large-volume lavages are performed on the non-ventilated lung. Warmed normal saline solution in 11 aliquots (total volumes up to 20 l) is instilled into the lung, chest physiotherapy is performed and the proteinaceous effluent is drained with the aid of postural positioning. The sequence of events is repeated until the effluent, which is initially milky and opaque, becomes clear [21-24]. As a result of the WLL procedure applied to our patient about 21 grams of proteins were removed from the lungs.

In the present study we noticed a tendency of increased γ_{eq} values after the initial saline infusion in the lungs during WLL (Fig. 4 and 5). This corresponds to the lower phospholipid content in the samples (data not shown). This effect was logical, since during the procedure along with the redundant proteins high amount of the phospholipids is also washed out from the air-liquid interface of the alveoli.

The analyzed mean values of the dynamic surface characteristics (γ_{max} and γ_{min}) also showed a tendency of an increase of its maximal and minimal surface tension values (Fig. 4 and 5). These results confirmed our findings regarding the equilibrium surface tension and its relation with the decreased phospholipid content.

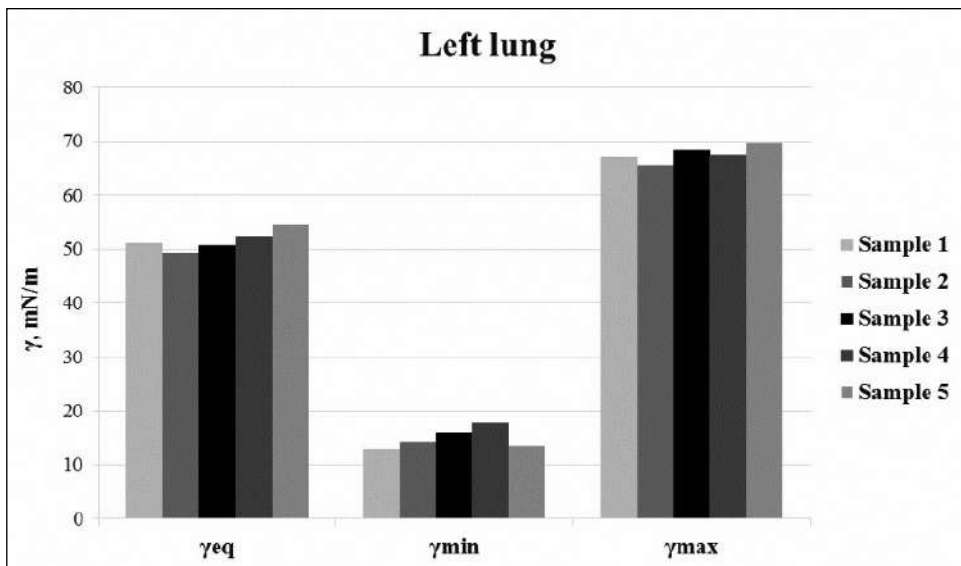


Fig. 4. Surface tension values γ_{eq} (mN/m) in broncho-alveolar lavage liquid samples from left lung.

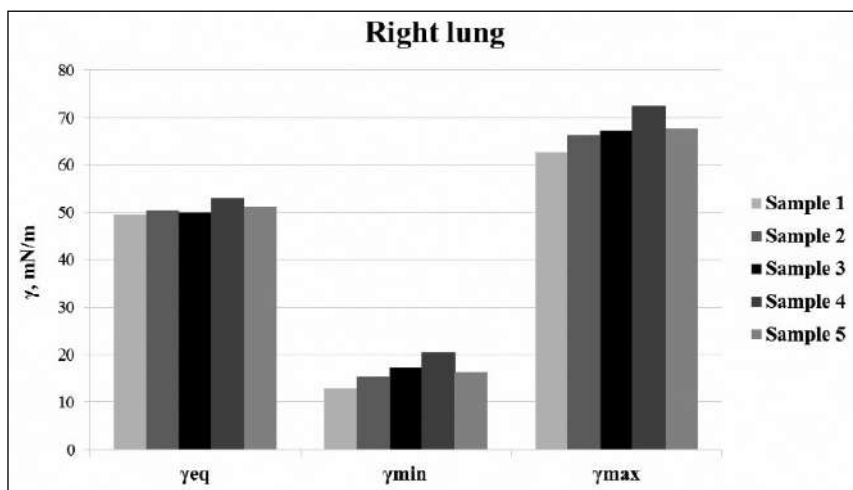


Fig. 5. Surface tension values γ_{eq} (mN/m) in broncho-alveolar lavage liquid samples from right lung.

The results from the biophysical analysis of the WLL samples confirm the efficiency of the applied PAP treatment especially after the first three cycles of the procedure. The contribution of our study was that the total volume of the saline solution was reduced to 10 liters.

Conclusion

Our results showed that AS behavior were changed in the different analyzed pathologies leading to an alteration in the surface tension characteristics.

The present study enlarges the knowledge on lung physiology and pathophysiology. It could find application into the clinical practice for fast surfactant maturity diagnostics in prematurely born children regarding lifesaving therapy with exogenous surfactants administration. It shows that lung cancer, hypoxia and inhalation anesthesia affect the biophysical properties of AS which leads to changes in its behavior. In addition, it would be of great interest for the effective implementation of the procedure of whole lung lavage in the clinical practice.

REFERENCES

- Hawgood, S., J. A. Clements. *J Clin Invest.*, 1990, **86**, 1.
 Johansson, J., T. Curstedt, B. Robertson, H. Jornval. *Biochemistry*, 1988, **27**, 3544.
 Creuwels, L. A., L. M. van Golde, H. P. Haagsman. *Lung*, 1997, **175**, 1.
 Scarpelli, E. M. *Anat Rec.*, 1998, **251**, 491.
 Zuo, Y. Y., F. Possmayer. *J Appl Physiol.*, 2007, **102**, 1733.

- Schurch, S., M. Lee, P. Gehr. *Pure & App. Chern.*, 1992, **64**, 1745. Griese, M. *Eur Respir J.*, 1999, **13**, 1455.
- Лалчев, З., Е. Христова. Алвеоларен сърфактант и неонатален респираторен дистрес синдром – от белодробната физиология до съвременно високотехнологично лечение, Университетско издателство „Св. Климент Охридски“, София, 2010.
- Yamakova, Y., R. Petkov., M. Bangyozova et al. *European Respiration Society Congress Munich*, 2014, 6-10 September.
- Rosen, S. H., B. Castleman, A. A. Liebow. *N Engl J Med*, 1958, **258**, 1123.
- Zasadzinski, J.A., T.F. Alig, C. Alonso, J.B. de la Serna, J. Perez-Gil, H.W. Tausch. *Biophys. J.*, 2005, **89**, 1621.
- Oue, S., M. Hiroi, S. Ogawa, S. Hira, M. Hasegawa, S. Yamaoka, M. Yasui, H. Tamai, T. Ogihara. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, 2009, **94**, 17.
- Birdi, K. S. Handbook of surface and colloid chemistry. Boca Raton: CRC Press; 1997.
- Lalchev, Z. I. In: Handbook of Surface and Colloid Chemistry, 1997, 625.
- Jain, M., J. I. Sznajder. *Ann Am Thorac Soc.*, 2005, **2**, 202.
- Paugam-Burtz, C., S. Molliex, B. Lardeux, C. Rolland, M. Aubier, J. M. Desmonts, B. Crestani. *Anesthesiology*, 2000, **93**, 805.
- Steneva, J., R. Petkov, D. Kostadinov, Vl. Stanoev. *Sci. and Pulmol.*, 2011, **1**, 26.
- Campo, I., Z. Kadija, F. Mariani, E. Paracchini, G. Rodi, F. Mojoli, A. Braschi, M. Luisetti. *Multidiscip Respir Med.*, 2012, **7**, 4.
- Crowther, J. E., L. S. Schlesinger. *Amer. J. Physiol. Lung Physiol.*, 2006, **290**, 334.
- Ramirez, R. J. *Dis Chest*, 1966, **50**, 581.
- Indira, K., V. Rajesh, V. Darsana, U. Ranjit, J. John, S. P. Vengadkrishnaraj, S. Dharmadhikari. *Indian J Chest Dis Allied Sci.*, 2007, **49**, 41.
- Beccaria, M., M. Luisetti, G. Rodi, A. Corsico, M. C. Zoia, S. Colato, P. Pochetti, A. Braschi, E. Pozzi, I. Cerveri. *Eur. Resp. J.*, 2004, **23**, 536.
- Webb, S. T., A. J. R. Evans, A. J. Varley, A. Klein. *J. Med. Case Reports*, 2008, **2**, 360.
- Michaud G., C. Reddy, A. Ernst. *Chest*, 2009, **136**, 1678.

Received: 28.02.2016 г.

БЕДРЕН ЛИПОСАРКОМ – ОРГАНОСЪХРАНЯВАЩА ОПЕРАЦИЯ

ЯВОР ГРИГОРОВ^{1*}, МАРИАН КЪНЧЕВ², АНТОНИНА ГЕГОВА¹,
РОСЕН СПАСОВ², СВЕТЛА ГЕОРГИЕВА²

¹ Болница „Лозенец“, Медицински Факултет на СУ „Св. Климент Охридски“
София,

² МБАЛ – Бургас

Липосаркомът представлява хетерогенна група адипоцитни тумори и е вторият по честота злокачествен мекотъканен тумор, около 18%. Описани са пет хистологични типа: 1. дедиференциран; 2. миксоиден / кръглоклетъчен; 3. плеоморфен; 4. смесен тип; 5. липосарком, който не може да бъде определен по друг начин.

Добре диференцираните форми (атипична липоматоза) са с най – нисък малигнен потенциал, като метастазират и дават локални рецидиви в по – малко от 1% от случаите. Двата пола се засягат еднакво, като по изключение могат да бъдат открити в детска възраст. С по – лоша прогноза са междинните форми като миксоидният / кръглоклетъчен тип, които метастазират в 10% – 30%. С най – лоша прогноза е дедиференцираният тип, метастазиращ в повече от 50% от случаите и най – често в левия бял дроб. Високо диференцираните форми могат да претърпят трансформация към дедиференцирана в дълбоките тъкани на крайниците, места където туморът може дълго време да остане недиагностициран. Затова ранното му откриване и отстраняване е от изключително значение за прогнозата на заболяването.

Цел на доклада Да обърне внимание на почти безсимптомното развитие на бедрен липосарком до достигане на гигантски размери и възможностите за прилагане на орган-съхраняваща операция.

Материал и метод Представеният пациент е мъж на 56 години, опериран по повод голям липосарком с размери 30/15 см., с медиална локализация в лявата бедрена област.

* За контакти : Д-р Явор Г. Григоров, д.м. София – 1407, УБ „Лозенец“, ул. „Козяк“ 1, тел. 0 888 004 954; 00359 2 960 7586, yavorgrigorov@yahoo.com

Резултат Ранният следоперативен период протича гладко. Оперативната рана, с изключение на малък участък дистално – зарастна първично. Оперираният крайник е напълно възстановен, не бе допуснато развитието на ставни контрактури в лявата тазобедрена и колянна става. До настоящия момент, няколко месеца след отстраняване на тумора, не е регистриран рецидив, локални или далечни метастази.

Дискусия Представеният случай е показателен. Дълго време мекотъканни тумори, в това число и първично злокачествени, локализирани в бедрената област могат да се развиват почти безсимптомно, при нормални лабораторни показатели, да достигнат големи размери и да ангажират магистрални кръвоносни съдове и нерви, което да обезсмисли извършването на органсъхраняваща операция. Ексцизионната биопсия или директното преминаване към широка (радикална) резекция на тумора в такива случаи е оправдано, поради риск от нарушаване целостта на тумора и неговото разпространение.

Заклучение Дълбоко разположеният липосарком не е рядък тумор за бедрената област, с пик на поява между 50 и 80 годишна възраст. Ранното му диагностициране и адекватно отстраняване може да предотврати ампутация или дизартрикулация на крайника и съхрани живота на пациента.

Ключови думи Ексцизия en bloc. Липосарком. Малигнен тумор. Органсъхраняваща операция.

Yavor Grigorov, Marian Kanchev, Antonina Gegova, Rosen Spassov, Svetla Georgieva.
FEMORAL LIPOSARCOMA – LIMB SPARING SURGERY.

The liposarcomas are adipocyte, heterogenic group of sarcomas and it's the second most common soft tissue malignant tumor with frequency about 18%. Five histological types have been described: 1. dedifferentiated; 2. myxoid / round cells; 3. pleomorphic; 4. mixed type 5. type, different from another groups. Well differentiated forms (atypical lipomatous tumor) have the smallest malignant potential. They spread metastatically and give local recidives in less than 1% of the cases. They have about equal gender distribution and rarely affect children. The intermittent forms like mixoid / round cells type are with the worse prognosis metastasing in 10% - 30% of the cases. Dedifferentiated type has the worst prognosis metastasing in more than 50% of the cases. Well differentiated forms can transform to dedifferentiated especially when they are localized in deep tissues in the limbs, region where the tumor can be long time non diagnosed. The early diagnosis and treatment are very important for the disease prognosis.

The aim of the report To pay attention to almost of symptomless development of the giant liposarcoma localized in femoral region and possibilities of treatment by limb sparing surgery.

Material and method The presented case is a 56 years old man affected by giant liposarcoma (35/15 sm.) of medial side of left femoral region.

Results The early postoperative period passed smoothly. The range of movement of left hip and knee joints is in normal limits. Operative wound has health per primam intentionem, expect the short part in the distal region. Up till now, several months after tumor removal, no data of local or distant metastases.

Discussion The presented case is significant. Soft tissue tumors including primary malignant localized in femoral region can develop long time almost without symptoms to rich giant sizes at the time when the laboratory investigations are in the normal limits, and to affect the important vessels and nerves. If its happened to treated the patient by limb sparing surgery is without benefit. The biopsy before surgery is not always recommended because there is a risk the reactive capsule of the tumor to be destroyed and the tumor cells to spread. The direct use of an excisional biopsy or large (radical) resection are recommended.

Conclusion Deep localized in the femoral region liposarcoma is not so rare tumor with peak of appearance between 50 and 80 years aged. The early diagnosis and adequate treatment can avoid amputation or disarticulation of the leg and to improve prognosis for the patient.

Key words Excisio en bloc. Liposarcoma. Malignant tumor. Limb sparing surgery.

ВЪВЕДЕНИЕ

Липосаркомът представлява хетерогенна група адипоцитни тумори и е вторият по честота злокачествен мекотъканен тумор, около 18%. Описани са пет хистологични типа: 1. дедиференциран; 2. миксоиден / кръглоклетъчен; 3. плеоморфен; 4. смесен тип; 5. липосарком, който не може да бъде определен по друг начин [5].

Добре диференцираните форми (атипична липоматоза) са с най – нисък малигнен потенциал, като метастазират и дават локални рецидиви в по – малко от 1% от случаите. Двата пола се засягат еднакво, като по изключение могат да бъдат открити в детска възраст. Предилекционни места на склерозиращата добре диференцирана форма са ретроперитонеалното пространство и ингвиналната област. Хистологичната диагноза на този вид тумори може да бъде потвърдена чрез генетични и имунохистохимични методи. Най – често диференциална диагноза се прави с липома, както и с вретеновидноклетъчния и плеоморфния липом [1]. С по – лоша прогноза са междинните форми като миксоидният / кръглоклетъчен тип, който метастазира в 10% – 30%. С най – лоша прогноза е дедиференцираният тип, метастазиращ в повече от 50% от случаите и най – често в левия бял дроб [3]. Високо диференцираните форми могат да претърпят трансформация към дедиференцирана в дълбоките тъкани на крайниците, места където туморът може дълго време да остане недиагностициран [2]. Затова ранното му откриване и отстраняване е от изключително значение за прогнозата на заболяването. Изборът на оперативната техника зависи от вида и разпространението на тумора и се прави най-често между органсъхраняваща операция (широка, радикална резекция) или ампутация. Прилагането на лъчетерапия и адювантна химиотерапия след отстраняване на добре диференцираните форми не е оправдано [4].

ПАЦИЕНТ И МЕТОД

Представеният пациент е мъж на 56 години (Б. Б. Д., ИЗ № 4044, 29.11.2015 г.), който постъпи в клиниката с оплаквания от болка и наличие на голяма подутина в лявата бедрена област, разположена медиално. Преди около 2 години, когато е била забелязана за първи път, същата е била с диаметър 7 – 8 см. Не е провеждано лечение. Пациентът се придвижваше без помощни средства. При прегледа бе установено наличието на голяма

туморна маса в лявата бедрена област, разположена медиално с плътна консистенция и лека болезненост, както и разширена подкожната съдова мрежа на бедрото и подбедрицата (фиг. 1). Не се палпираха патологично увеличени регионални лимфни възли. Левият долен крайник нямаше данни за сетивни и циркулаторни смущения. Пациентът беше с анамнестични данни за прекаран перикардит и съпътстващ псориазис. Резултатите от лабораторните изследвания бяха в нормални стойности, с изключение на тези на завишената пикочна киселина. Данните от ЯМР свидетелстваха за голяма туморна формация в областта на лявото бедро с продълговата форма, с мастно – тъканна компонента, каудално съответстваща в по-голяма степен на липосарком и размери 30/15 см. (фиг. 2). Ехографията на коремните органи разкриваше неравномерна стеатоза на черния дроб и бъбречни кисти без клинично значение.

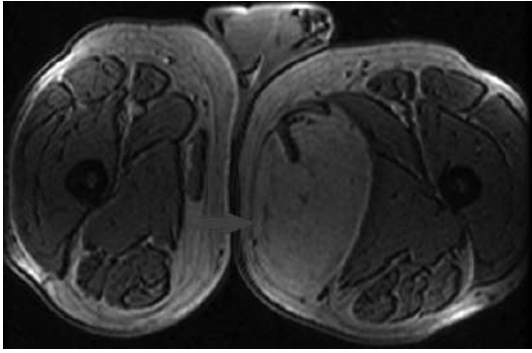


а.

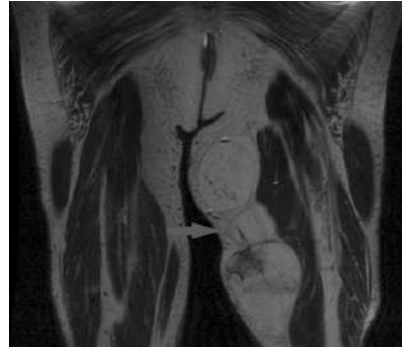


б.

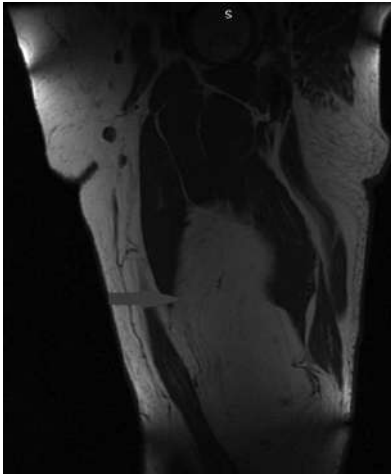
Фиг. 1 (а, б) – диагностични фотоснимки – наличие на голяма туморна маса в лявата бедрена област, разположена медиално, разширена подкожната съдова мрежа на бедрото и подбедрицата



а.



б.



в.

Фиг. 2 (а, б, в). диагностичен Я М Р – голяма туморна формация в областта на лявото бедро с продълговата форма, с масно – тъканна компонента, каудално съответстваща в по-голяма степен на липосарком и размери 30/15 см. (стрелките).

Поради голямата вероятност от злокачественост и риск от метастазиране се премина директно към ексцизионна биопсия. Туморът бе отстранен заедно с интимно прирастналия към капсулата му *m. gracilis*. Етапите на оперативната интервенция и макроскопският изглед на тумора са представени на фиг. 3, фиг. 4 и фиг. 5.



а.



б.



в.



г.



д.

Фиг. 3. (а, б, в, г, д). (а) надлъжен оперативен достъп по медиалната страна на бедрената област. (б) отделяне на тумора от повърхностния мекотъкнен слой, *m. gracilis* е прираснал интимно към капсулата му. (в) сепариране на формацията дистално и в дълбочина. (г) след прекъсване на хилуса туморът е почти напълно отделен и остава прикрепен само на инсерцията на *m. gracilis*. (д) мекотъкнатата рана след пълното отстраняване на саркома.



а.



б.

Фиг. 4 (а, б). (а) осигурен е медиален и задно-медиален дренаж на оперативната рана, която е затворена чрез капитонаж, поради риск от образуване на кухина. (б) преди поставяне на превръзката.



а.

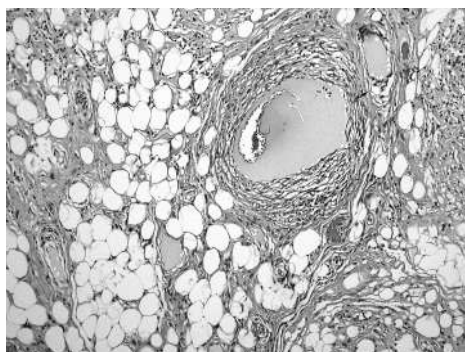


б.

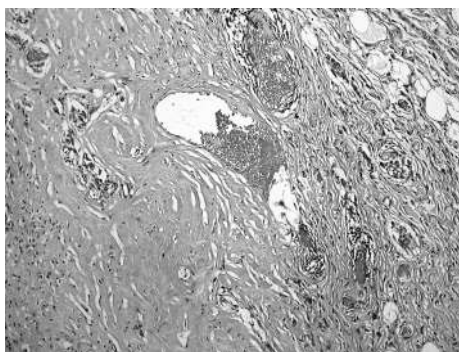
Фиг. 5 (а, б) – макроскопски вид на тумора, с размери 30/15 см., ексцизиран en bloc и заедно с почти целия *m. gracilis*.

Хистологичната находка (фиг. 6) разкри склерозиращ вариант на високодиференциран липосарком с изразен полиморфизъм включително и във фиброзната компонента. На фиг. 6 (а) личат неправилните и с различни размери лобули, ограничени от съединителна тъкан. Туморните мастни клетки са с различна форма и периферно разположени ядра, които показват не силно изразен полиморфизъм. Съдовете са с ексцентрично задебелени стени. На фиг. 6 (б) ясно се виждат фиброзни полета от хиелинизирана тъкан, хиперимирани и дилатирани кръвоносни съдове от венозен тип, както и наличие на сидерофаги в съдовата стена, лумена и интерстициума. На фиг. 6 (в) също личат различните по форма и размери туморни клетки, с поле на мастна некроза

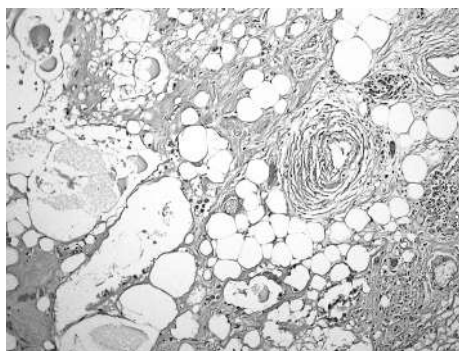
и колекции от сидерофаги, остатък от стари кръвоизливи и свидетелство за доброто кръвоснабдяване на тумора.



а



б.



в.

Фиг. 6. (а, б, в). хистологична находка (оцветяване с хематоксилин – еозин).

Следоперативният период протече сравнително гладко (фиг. 7). За да бъде предотвратено развитието на контрактури в тазобедрената и колянната става, бе назначена кинезитерапевтична програма. Компликациите включваха образуването на сером в дисталната част на бедрената област, който бе дрениран чрез малка инцизия. Само в тази част оперативната рана зарастна вторично след неговата евакуация. За кратък период пациентът се оплакваше от краткотрайно изтръпване на лявата подбедрица и усет за известна нестабилност при ходене.



а.



б.

Фиг. 7 (а, б). Състоянието на оперативната рана след изваждане на дренажите.

Резултат

Ранният следоперативен период протече сравнително гладко. Оперативната рана, с изключение на малък участък дистално – зарастна първично. Оперираният крайник е напълно възстановен, не бе допуснато развитието на ставни контрактури в лявата тазобедрена и колянна става. До настоящия момент, няколко месеца след отстраняване на тумора не е регистриран рецидив, локални или далечни метастази.

Дискусия

Представеният случай е показателен. Дълго време мекотъканни тумори, в това число и първично злокачествени, локализирани в бедрената област могат да се развиват почти безсимптомно, при нормални лабораторни показатели, да достигнат големи размери и да ангажират магистрални кръвоносни съдове и нерви, което да обезсмисли извършването на органсъхраняваща операция. Ексцизионната биопсия или директното преминаване към широка (радикална) резекция на тумора в такива случаи е оправдано, поради риск от нарушаване целостта на тумора и неговото разпространение.

Заклучение

Дълбоко разположеният липосарком не е рядък тумор за бедрената област, с пик на поява между 50 и 80 годишна възраст. Ранното му диагностициране и адекватно отстраняване може да предотврати ампутация или дизартрикуляция на крайника и съхрани живота на пациента.

КНИГОПИС

- [1]. Jerzy Klijanienko, Real Lagace. Soft tissue tumors a multidisciplinary, decisional diagnostic approach. John Wiley & Sons, Inc. 2011, (263 – 275).
- [2]. Liyuan Yu, Sungmi Jung, Leonard Hojnowski, Timothy Damron. Dedifferentiated Liposarcoma of soft tissue with high – grade osteosarcomatous dedifferentiation. RadioGraphics 25. July 2005 (1082 – 1086).
- [3]. Marlo Nicolas, Cesar A. Moran, Saul Suster. Pulmonary metastasis from Liposarcoma. Am J Clin Pathol 2005;123:265–275 2.
- [4]. Murray F. Brennan, Cristina R. Antonescu, Robert G. Maki. Management of soft tissue sarcoma. Science+Business Media New York 2013, (92 – 105).
- [5]. Peter A. Humphrey, Louis P. Dehner, John D. Pfeifer. The Washington manual of surgical pathology, the second edition 2012 (742 –749).

Дата на постъпване: 25.02.2016 г.

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

CYCLOSPORINE AND CREATININE BLOOD LEVELS MONITORING IN PEDIATRIC AND ADULT LIVER TRANSPLANT PATIENTS

VENETA DIMITROVA¹, DZHEM FARANDZHA¹, IVANKA ATANASOVA²,
LUBOMIR SPASSOV³, DIMITER TERZIIVANOV²

¹ Undergraduate Medical Student, Faculty of Medicine, Sofia University
St. Kliment Ohridski, Sofia, Bulgaria

² Pharmacology and Clinical Pharmacology Unit, University Hospital Lozenetz,
Faculty of Medicine, Sofia University St. Kliment Ohridski, Sofia, Bulgaria

³ Department of Cardiovascular Surgery, University Hospital Lozenetz,
Faculty of Medicine, Sofia University St. Kliment Ohridski, Sofia, Bulgaria

Immunosuppression after solid organ transplantation is crucial for patient and graft survival. Cyclosporine is a well known immunosuppressor with narrow therapeutic range and nephrotoxic potential. A retrospective analysis of a set of 20 liver transplant recipients was performed to investigate for association, if any, between measured cyclosporine concentrations and serum creatinine. No significant association between measured CsAC₂ concentrations and serum creatinine levels was observed in adult liver transplant patients. A statistical significant positive correlation between both cyclosporine C₀ (n=255, Spearman r=0.16, p=0.0001) and C₂ (n=98, Spearman r=0.22, p=0.0001) levels and serum creatinine was observed with higher cyclosporine concentrations corresponding to higher serum creatinine levels in paediatric liver transplant patients.

Key words: Cyclosporine, serum creatinine, liver transplantation, adult patients, paediatric patients

Венета Димитрова, Джем Фарънджъ, Иванка Атанасова, Любомир Спасов, Димитър Терзииванов. МОНИТОРИРАНЕ НА КРЪВНИТЕ НИВА НА ЦИКЛОСПОРИН И СЕРУМНИЯ КРЕАТИНИН ПРИ ЧЕРНОДРОБНО ТРАНСПЛАНТИРАНИ ДЕЦА И ВЪЗРАСТНИ . Имуносупресията след органна трансплантация е от решаващо значение за оцеляването на транспланта и пациента. Циклоспоринът е добре познат имуносупресор с тесен терапевтичен индекс и нефротоксичен потенциал. Направен е ретроспективен анализ на 20 чернодробни реципиенти, търсейки асоциация между кръвните нива на циклоспорина и серумния креатинин. Наблюдава се несигнификантна асоциация между измерените C_2 концентрации на циклоспорин и серумния креатинин при чернодробно трансплантирани възрастни пациенти. Статистически значима позитивна корелация бе установена между C_0 ($n=255$, Spearman $r=0.16$, $p=0.0001$) и C_2 ($n=98$, Spearman $r=0.22$, $p=0.0001$) концентрации на циклоспорин и серумния креатинин при чернодробно трансплантирани деца на, като по-високите циклоспоринови концентрации кореспондират с по-висок серумен креатинин.

Ключови думи: Циклоспорин, серумен креатинин, чернодробна трансплантация, педиатрични и възрастни пациенти

INTRODUCTION

Liver transplantation (LT) is a life saving procedure for patients with end stage liver disease. LT is also curative for some hereditary metabolic disorders as familial hypercholesterolemia and for selected cases of hepatic malignancies as hepatocellular carcinoma (HCC) and hepatoblastoma. Recipients after orthotopic LT have excellent survival rate (83% for 1 year and 75% for 5 years) that has improved markedly over the past three decades.

Development of new classes of immunosuppressive agents and changes in post transplantation immunosuppression regimens are major contributing factors for this improvement. However, while long term post transplant immunosuppression decreases rejection episodes in LT recipients, it also puts the patients at increased risk of infection, malignancies and specific adverse effects unique to each agent. There are different immunosuppression protocols used by transplant centers worldwide; however, any LT recipient may need an individually tailored immunosuppression regimen to balance the benefits and potential harm of therapy while decreasing the risk of recurrence of their primary disease (Moini 2015: 1355–1368) pls, check for compliance with Annual's requirements.

Immunosuppression plays a key role in graft and patient survival in the post-transplantation period. Effective immunosuppression relies on preventing the immune system from rejecting the allograft while preserving immunologic control of infection and neoplasia (Pillai 2009: 4225–4233). Cyclosporine (CsA) is used clinically to suppress the immune response in transplant patients and prevent organ rejection. Monitoring of cyclosporine therapy is required because of its narrow therapeutic index, high pharmacokinetic variability, increased risk of drug interactions *via* CYP3A4- dependent pathway and nephrotoxicity (Tero-Vescan 2012: 595–601).

Cyclosporine is a potent immunosuppressive agent that has dose-related nephrotoxicity. Long-term survivors after liver transplantation can provide ideal models to establishing maintenance doses of cyclosporine, because these are guided by nephrotoxicity (Iwatsuki 2010: 641–643).

Therapeutic drug monitoring is necessary for drugs with a narrow therapeutic index (i.e., the exposure for efficacy is close to that associated with toxicity) and when there is a high level of inter-patients variability in drug blood concentrations after a given dose. In addition, it is more effective when there is a clinical measure that is a good surrogate for total drug exposure; when there is a clear relationship between drug exposure, efficacy, and toxicity; and when sampling protocol is easy to be performed. Calcineurin inhibitors (CNIs) clearly require drug monitoring because of their narrow therapeutic index. The existence of a number of drug interactions that affect CNIs levels is another motivating factor. Unfortunately, there is a less-than-ideal correlation between some drug levels and overall exposure and, therefore, clinical events (Schiff 2007: 374–384).

In children both pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs differ from those of adults. All stages of drug absorption, distribution, metabolism and excretion are affected by a child's age and will change when they reach adolescence. The major issue for post transplant immunosuppressive therapy in paediatrics is the lack of adequate control trials in this patientspopulation. Most of the immunosuppressive strategies used inpaediatric liver recipients are used based on data gathered from adult patients. However, generally in younger children the clearance of most drugs is increased and most children need higher weight based doses of immunosuppressive medication. Tacrolimus and cyclosporine are approved for use in paediatric liver recipients (Moini 2015: 1355–1368)

Long-term treatment with CsA was not associated with clinically relevant serum creatinine increase during treatment period and follow-up in patients with severe atopic dermatitis. The consequent monitoring of serum creatinine levels and appropriate CsA dose adjustment in case of increase in creatinine levels in the study population may explain the lack of irreversible serum creatinine increase (Schaft 2015,963–967).

The aim of the study was to investigate any relationship between serum creatinine(Scr) levels and cyclosporine concentrations following liver transplantation in paediatric patients and to investigate forassociation between measured cyclosporine concentrations and Scr as a biomarker for renal function.

Monitoring CsA levels two hours after dosing (C_2) has been shown to be effective in providing adequate CsA-based immunosuppression in clinical trials in adult transplant recipients, but there is limited data regarding C_2 monitoring in paediatric transplant recipients (Hmiel SP, 2007: 524–529).

MATERIALS AND METHODS

The study included 20 patients (divided into two groups – 8 adults and 12 children) who were on Neoral® (CsA) after undergoing liver transplantation during the period from 2004 to 2009. All patients were treated with Neoral® twice daily *p.o.* at 08:00 and at 20:00. C₀ (trough) CsA concentrations were measured in the morning and evening before each drug dose, and C₂ drug levels were measured in the morning and evening, two hours after dosing. Whole blood cyclosporine concentrations were determined by Fluorescence Polarization Immuno Assay (FPIA), Abbott Diagnostics.

The first part of the study was designed to retrospectively analyse 8 adults who were on cyclosporine (Neoral®) post-OLT between July 2005 and May 2007 at the University Hospital Lozenetz. Their mean age at the time of OLT was 36.5 years (range 18 – 58 years). Their mean weight at the time of OLT was 71.75kg (range 61-105kg) and their mean height was 172.9cm (range 160–183cm).

Table 1. Demographic characteristics of adults patients

Patient#	Gender*	Age (years)	Diagnosis*	LT	Weight (kg)	Height (cm)
001	F	26	PBC, LC	OLT	64	160
002	F	22	LC(Genesis Autoimmunity)	OLT	75	172
003	F	37	PBC, LF	OLT	61	163
004	M	58	LC	OLT	65	165
005	M	18	LC	OLT	72	183
006	M	43	LC	OLT	70	178
007	M	53	LC	OLT	105	182
008	M	34	LC (cryptogenic)	OLT	62	180

* F-Female; M-Male; PBC-Primary Biliary Cirrhosis; LC-Liver Cirrhosis; LF-Liver Failure; OLT-Orthotopic Liver Transplantation

Three of adult patients were female and five were male. The patients' diagnoses were liver cirrhosis, primary biliary cirrhosis and liver failure.

The second part of the study was a retrospective one on 12 pediatric patients who received a liver transplant between November 2004 and August 2009 at the University Hospital Lozenetz. Their mean age was 2 years and 9 months (range 5 months– 12 years). Their mean weight at the time of OLT was 12.73 kg (range 5.6–50 kg) and their mean height was 81.5cm (range 60–154cm).

Table 2. Pediatric Patients Data

Patient#	Gender	Age	Weight (kg)	Height (cm)	Diagnosis*
AEM	F	5 m/o	5.6	60	CBA, LC, A
ASA	F	1 y/o	7.6	71	LC
ATT	F	6 m/o	6.7	64	CBA
BAC	M	6 m/o	5.6	62	CBA, LF
EEM	F	9 m/o	6.4	65	CBA, CBC
ISG	M	3 y/o	11.8	88	LC
JMM	F	4 y 7 m/o	20	104	CBA
PPV	F	7 m/o	7.4	67	CBA, LC, A
SZA	F	8 m/o	7.7	69	CBA
SZS	F	12 y/o	50	154	APV, HA, LC
TFB	F	7 m/o	6	64	CBA, CBC, CLF
VStI	F	8 y/o	18	110	CBA, LC

* CBA – congenital biliary atresia, LC – liver cirrhosis, A – ascites, LF – liver failure, CBC – congenital biliary cirrhosis, APV – atresia of the portal vein, HA – hepatic adenomatosis, CLF – chronic liver failure

Ten of the twelve paediatric patients were females and two of them were males. The paediatric patients' diagnoses were congenital biliary atresia, liver cirrhosis, ascites, liver failure, congenital biliary cirrhosis, atresia of the portal vein, hepatic adenomatosis and chronic liver failure.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed on 107 measured cyclosporine concentrations and serum creatinine levels for adult patients, and on 255 measured CsA concentrations and Scr for pediatric patients, by means of GrafPad Prism 5.0 and Origin 5.0. Results were expressed as mean \pm SE and as median with its ranges. Relationship between investigated variables was assessed by using correlation analysis and *p*-value less than 0.05 was considered as statistically significant.

RESULTS AND DISCUSSION

In adult patients the measured C_2 cyclosporine ($CsAC_2$) concentrations followed non-Gaussian distribution, whereas serum creatinine concentrations followed normal statistical distribution. Mean serum creatinine levels were 93.91 ± 3.43 mmol/L. $CsAC_2$ median levels were 380.8 mcg/L, range between $29.60 \div 1878$ mcg/L.

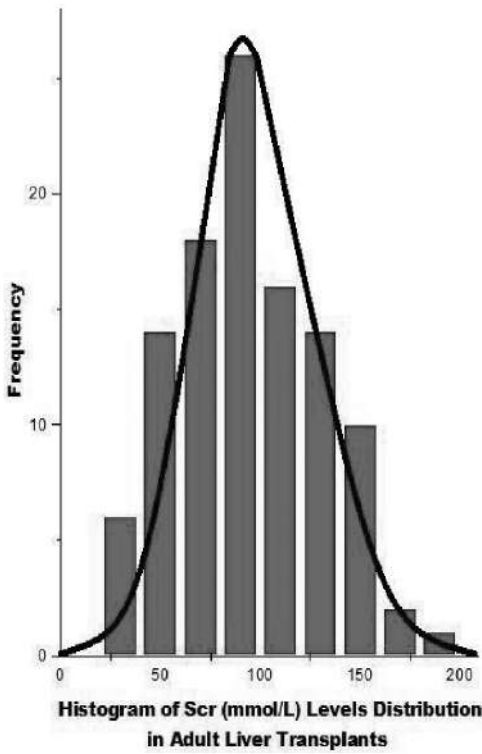


Fig. 1. Distribution of serum creatinine levels in adult liver transplants

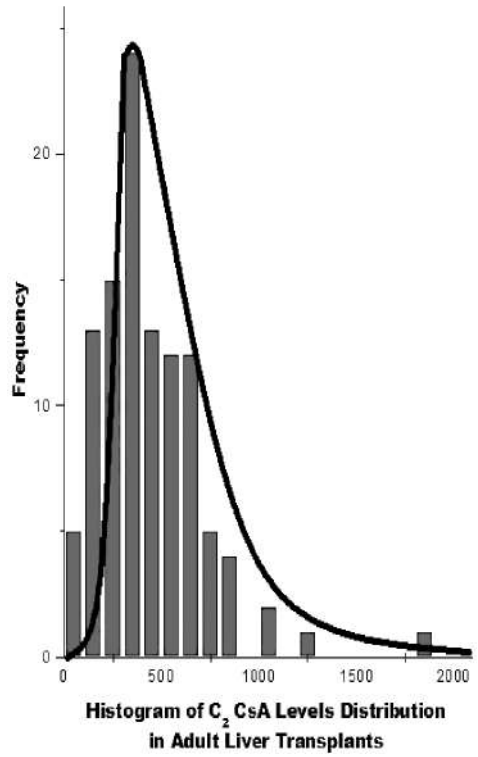


Fig. 2. Distribution of C₂ CsA levels in adult liver transplants

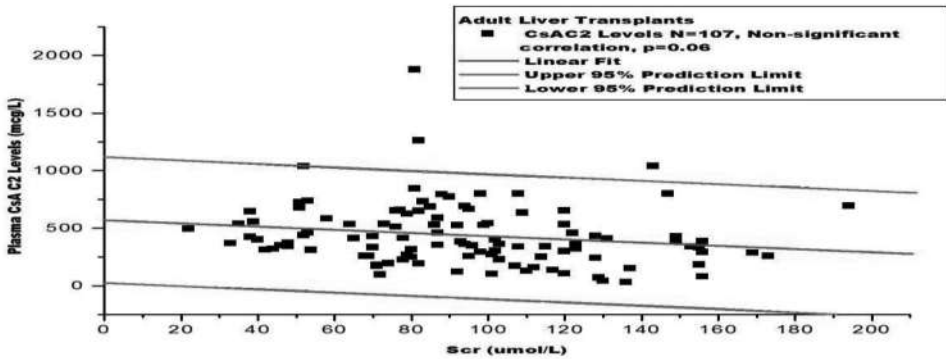


Fig. 3. Correlation between measured CsAC2 concentrations and serum creatinine levels in adult transplant patients

No significant association between measured CsA concentrations and serum creatinine levels was observed.

In paediatric patients the measured CsA concentrations right before and 2 hours after drug administration, CsA₀ and CsA₂ respectively, as well as the serum creatinine levels followed non-Gaussian distribution. CsA₀ median levels were 155.9 mcg/L (12.90 ÷ 800.00 mcg/L) and corresponding median serum creatinine levels were 18.00 mmol/L (7.00 ÷ 48.00 mmol/L). CsA₂ median levels were 358.9 mcg/L (17.20 ÷ 1513 mcg/L) and median serum creatinine levels were 22.0 mmol/L (11 ÷ 45 mmol/L). A significant positive correlations between both cyclosporine C₀ (n=255, Spearman r=0.16, p=0.0001) and C₂ (n=98, Spearman r=0.22, p=0.0001) levels and serum creatinine was observed with higher cyclosporine concentrations corresponding to higher serum creatinine levels. Future analysis on larger paediatric sample sizes needed in order to confirm this observation.

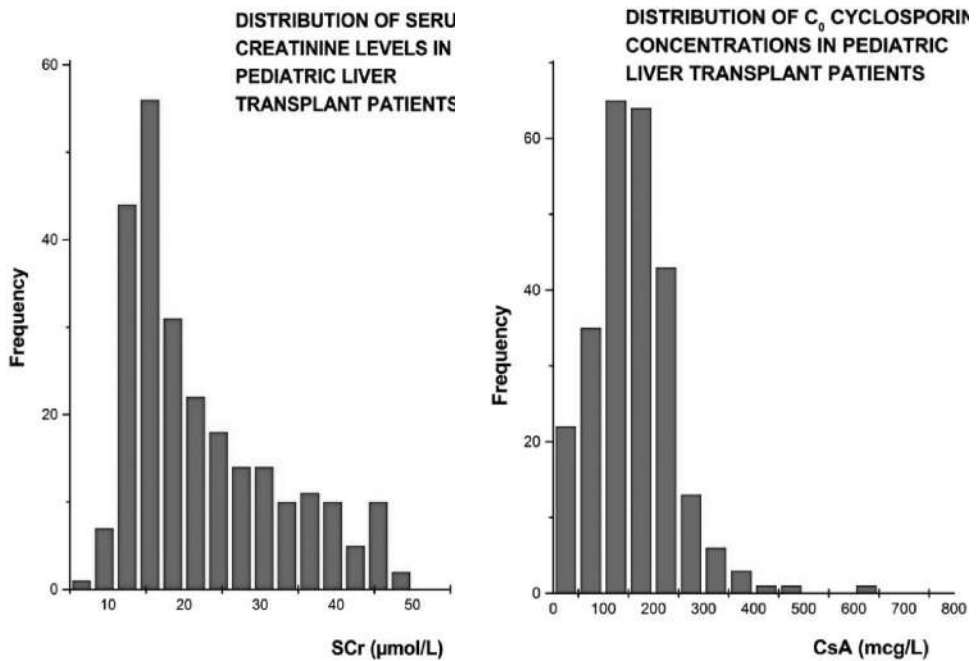


Fig. 4. Distribution of serum creatinine levels and C₀ cyclosporine concentrations in pediatric liver transplant patients

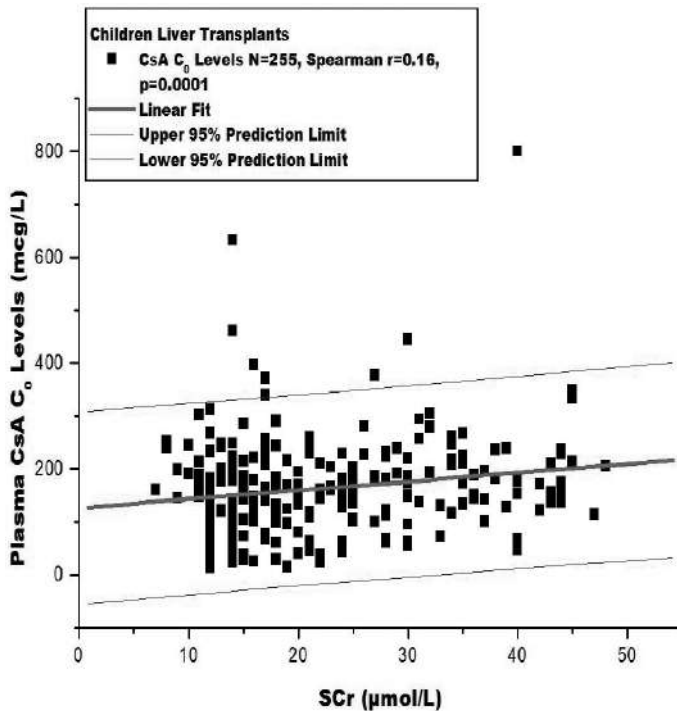


Fig. 5. Correlation between measured CsA C_0 concentrations and serum creatinine levels in pediatric transplant patients

We found no significant association between measured CsA C_2 concentrations and serum creatinine levels in adult transplant patients. Weisner et al. (12) showed that serum creatinine levels did not correlate with cyclosporine dose 1 year after transplantation. Treckmann et al. (3234–3236) wrote that there was no correlation between Model for End-Stage Liver Disease (MELD) score and acute rejection episodes. The purpose of his analysis was to evaluate the predictive value of C_0 and C_2 monitoring and the influence of primary dysfunction in liver transplant recipients receiving induction therapy with Neoral, mycophenolate mofetil, and steroids. Beiraghdar et al. (13) reported a negative relation between CsA levels (C_0 and C_2) with serum creatinine.

We suggest that the significant positive relationship between cyclosporine C_0 and C_2 concentrations and serum creatinine levels in paediatric liver-transplant recipients might have future impact on cyclosporine dosage regimens. Frauca et al. (530–535) concluded that poor absorption of CsA in small children requires a considerable increase in dose. CsA exposure cannot be estimated by single C_0 or C_2 determinations in the early post-transplant period.

In adult liver transplant recipients, 2 hours post-Neoral® (C_2) dose monitoring is associated with a lower incidence and severity of acute cellular rejection and improved renal function than C_0 (trough level) monitoring (Shapiro, 2003: 450–453).

While C_0 monitoring frequently results in overdosing and more renal dysfunction, C_2 monitoring may lead to episodes of underdosing and rejection. Therefore, better ways of monitoring cyclosporine dosing need to be devised (Langers, 2004: 184–186).

CONCLUSIONS

A plausible explanation for lack of significant association between measured CsAC₂ concentrations and serum creatinine levels might be the different statistical distributions of cyclosporine C_2 levels and serum creatinine in adult liver transplant patients.

The significant positive relationship between cyclosporine C_0 and C_2 concentrations and serum creatinine levels observed in paediatric patients who underwent liver transplantation might have future implications as to individualizing of cyclosporine dosage regimens in paediatric liver-transplant recipients based on measured serum creatinine levels.

REFERENCES

1. Moini, M., Schilsky, M. L., & Tichy, E. M. Review on immunosuppression in liver transplantation. *World J Hepatol.* 2015 Jun 8; 7(10): 1355–1368. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4450199/>
2. Pillai, A. A., & Levitsky, J. Overview of immunosuppression in liver transplantation. *World J Gastroenterol.* 2009 Sep 14; 15(34): 4225–4233. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2744178/>
3. Vari, C., Vescan, A. T., Imre, S., & Muntean, D. L. THERAPEUTIC DRUG MONITORING OF CYCLOSPORINE IN TRANSPLANTED PATIENTS. POSSIBILITIES, CONTROVERSY, CAUSES FOR FAILURE. *FARMACIA*, 2012, Vol. 60, 5: 595–601. Retrieved from <http://www.revistafarmacia.ro/201205/art1.vari.pdf>
4. Iwasuki, S., Starzl, T. E., Shaw, B. W., Yang, S. L., Zitelli, B. J., Gartner, J. C., & Malatack, J. J. LONG-TERM USE OF CYCLOSPORINE IN LIVER RECIPIENTS REDUCTION OF DOSAGES IN THE FIRST YEAR TO AVOID NEPHROTOXICITY. *Transplantation.* 1983 Dec; 36(6): 641–643. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2965582/>
5. Schiff, J., Cole, E., & Cantarovich, M. Therapeutic Monitoring of Calcineurin Inhibitors for the Nephrologist. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology (CJASN)* March 2007 vol. 2no. 2 374–384. Retrieved from <http://cjasn.asnjournals.org/content/2/2/374.full>
6. Hmiel, S., Canter, C., Sheperd, R., Lassa-Claxton, S., & Nadler, M. Limitations of cyclosporine C_2 monitoring in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2007 Aug; 11(5): 524–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17631021>
7. Shapiro, R., Waissman, I., Mor, E., Kleper, R., Nussinovitch, M., Dinari, G., & Ben-Ari, Z. Neoral dose monitoring using 2-hour cyclosporine post-dose levels in stable children with liver transplants: Improvement in renal function. *Pediatr Transplant.* 2003 Dec; 7(6): 450–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14870892>

8. Langers, P., Cremers, S. C., Hartigh, J., Veenendaal, R. A., Rogier ten Hove, W., Ringers, J., . . . Hoek, B. V. Switching monitoring of emulsified cyclosporine from trough level to 2-hour level in stable liver transplant patients. *Liver Transplantation. Volume 10, Issue 2 February 2004 Pages 183–189*. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lt.20056/full>
9. Cantarovich, M., Barkun, J. S., Tchervenkov, J. I., Besner, J., Aspeslet, L., & Metrakos, P. COMPARISON OF NEORAL DOSE MONITORING WITH CYCLOSPORINE TROUGH LEVELS VERSUS 2-HR POSTDOSE LEVELS IN STABLE LIVER TRANSPLANT PATIENTS. *Transplantation 66(12):1621-7 · December 1998*. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/13405273_Comparison_of_Neoral_dose_monitoring_with_cyclosporine_trough_levels_vs_2-hr_postdose_levels_in_stable_liver_transplant_patients
10. Frauca, E., Diaz, M., De la Vega, A., Hierro, L., Camarena, C., Munoz, G. B., . . . Jara, P. (2007, August 11). Cyclosporine monitoring in the early post-transplant period in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant. 2007 Aug;11(5):530-5*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17631022>
11. Schaft, J. V., Zuilen, A. D., Deinum, J., Buijnzeel-Koomen, C. A., & Bruin-Weiler, M. S. Serum Creatinine Levels During and After Long-term Treatment with Cyclosporine A in Patients with Severe Atopic Dermatitis. *Acta Derm Venereol 2015; 95: 963–967*. Retrieved from [file:///C:/Documents and Settings/usermv/My Documents/Downloads/4423.pdf](file:///C:/Documents%20and%20Settings/usermv/My%20Documents/Downloads/4423.pdf)
12. Wiesner, R. H., Goldstein, R. M., Donovan, J. P., Miller, C. M., Lake, J. R., & Lucey, M. R. The Impact of Cyclosporine Dose and Level on Acute Rejection and Patient and Graft Survival in Liver Transplant Recipients. *Liver Transplantation and Surgery 1998, January*
13. Beiraghdar, F., Rostami, Z., & Einollahi, B. (2011). Cyclosporine Through and 2 Hour Post Dose Monitoring and Its Contributing Factors among Pediatric Kidney Recipients, *Nephro-Urol Mon. 2011;3(4):296-300*
14. Tanaka, K., Lake, J., Villamil, F., Levy, G., Marrota, P., Mies, S., . . . Moench, C. Comparison of Cyclosporine Microemulsion and Tacrolimus in 39 Recipients of Living Donor Liver Transplantation. *Liver Transplantation, 2005, November, 1395-1402*
15. Treckmann, J., Paul, A., Özcelik, A., Saner, F., Malagó, M., Nadalin, S., . . . Broelsch, C. Efficacy of C0 and C2 Monitoring in Adult Liver Transplant Recipients Treated With Neoral, Mycophenolate Mofetil, and Steroids. *Transplantation Proceedings, 2007, Elsevier, 3234-3236*.

FOOTNOTE

The paper partly summarizes the results presented at the 25th International Medical Sciences Student Congress (IMSSC), Istanbul, Turkey, 13-15 May, 2016 as two scientific oral presentations. They were rated as the fourth and sixth best presentations of the Congress.

Received: 15.04.2016

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

APPLICATION OF POPULATION PHARMACOKINETIC ANALYSIS IN EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

KRISTINA BOZHINOVA^{1*}, IVANKA ATANASOVA², DIMITER TERZIIVANOV²

¹ Faculty of Chemistry and Pharmacy, 1164 Sofia, 1 James Bourchier Blvd.

² Faculty of Medicine, 1407 Sofia, 1 Kozyak Str. Sofia University St. Kliment Ohridski, Bulgaria

Кристина Божинова, Иванка Атанасова, Димитър Терзииванов. ПРИЛОЖЕНИЕ НА ПОПУЛАЦИОННИЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕН АНАЛИЗ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛНАТА ФАРМАКОЛОГИЯ

Цел на проучването беше разработване на популационен ФК модел и D-оптимален популационен ФК модел на кофеин при плъхове, тъй като кофеинът е широко прилаган като лекарство за мониторинг и оценка активността на цитохром P450 (CYP) 1A2. Мъжки плъхове порода Wistar бяха третирани с еднократна перорална доза от 5 mg.kg⁻¹ кофеин. Плазмените нива на кофеин бяха определени чрез валидирана ВЕТХ методика. От всяко животно еднократно беше взета проба кръв съгласно протокола на проучването. Метода на непараметричното моделиране на максималното очакване (NPEM2), включен в софтуера на USC*PACK програмата, беше използван за разработване на ФК модел на кофеин при плъхове (NPEM2-RATS), базиран на 24 измерени плазмени нива от 24 животни. D-оптималният анализ установи, че времената за вземане на кръвни проби на 1-ви, 7-ми и 10-ти час след приема на кофеин са оптималните времена, поради което ФК модел на кофеин при плъхове (NPEM2-ОПТ – дизайн), основан на оптималния дизайн, се разработи със 7 плазмени концентрации на кофеин, взети в оптималните времена, всяка взета от 1 плъх. Моделът беше проспективно валидиран чрез Бейсовски анализ на кофеиновите плазмени концентрации, взети от 17 плъха. Предсказващите възможности на NPEM2-ОПТ-дизайн модела показаха много малки отклонения и висока прецизност. И двата модела показаха,

* For contact: Prof. Dimiter Terziivanov, MD, PhD, DSci, Faculty of Medicine, Univ. Hospital “Lozenetz” tel: 00359 9607 346 email: terziiv@yahoo.com

че кофеин се очиства около 3 пъти по-бързо при плъхове в сравнение с хора. В допълнение, двата популационни модела при плъхове, NPEM2-RATS и NPEM2-ОПТ-дизайн, бяха сравнени за резултатност чрез програмата WinPOPT (v.1.2.1). Сравнението установи превъзходството на модела NPEM2-ОПТ-дизайн над NPEM2-RATS. Взети заедно, резултатите показват, че подходът на популационния анализ може да бъде надежден и достатъчно чувствителен метод за изучаване на системното разпределение и елиминиране на лекарства в малки лабораторни животни като плъхове.

Ключови думи: Популационно ФК моделиране на кофеин, метод на непараметричното моделиране на максималното очакване (NPEM2), софтуер USC*PACK, D-оптимален популационен ФК модел

The aim of the study was developing of a population PK model and a D-optimal population PK model of caffeine in rats as caffeine is widely used as a probe drug for monitoring and evaluating of cytochrome P450 (CYP) 1A2 activity. For these purposes male Wistar rats were given a single oral dose of 5 mg.kg^{-1} caffeine. The determination of caffeine plasma levels was performed by a validated HPLC method. Each animal was sampled once according to the study protocol. The nonparametric expectation maximization algorithm (NPEM2), as implemented in USC*PACK programs, was used for developing of a population PK model of caffeine in rats (NPEM2-RATS) based on 24 measured plasma levels from 24 animals. D-optimal theory revealed the sampling times at 1, 7 and 10 hours after caffeine intake as the optimal ones and hence the optimal design caffeine PK model (NPEM2-OPT-design) in rats was based on 7 optimal time concentrations, each taken from 1 rat. The model was validated prospectively on 17 rats caffeine concentrations used as Bayesian *priors*. The predictive performance of NPEM2-OPT-design model was characterized by very low bias and high precision. Both models pointed out that caffeine was about more than 3 times more rapidly cleared in rats as compared to humans. In addition, both population rats models, NPEM2-RATS and NPEM2-OPT-design, were compared for efficiency using WinPOPT (v.1.2.1.) program. The comparison revealed the superiority of NPEM2-OPT-design model over NPEM2-RATS model. Taken together, the results point out that population analysis approach could be a reliable and sufficiently sensitive method for studying drug systemic disposition in small laboratory animals like rats.

Key words: Bayesian analysis, Population pharmacokinetics model of caffeine, Wistar rat, Nonparametric Expectation Maximization Algorithm, USC*PACK, D-optimal theory

INTRODUCTION

Conventionally, population pharmacokinetic (PK) analysis has been intensively used in individualizing and optimizing drug therapy in clinical practice in order to achieve safe dosage regimens, as well as in the early stages of new drugs development (Steimer et al 1994: 404-451). Moreover, recently published data suggest that population PK approach can be successfully applied in drug phenotyping based on sparse data clinical protocols with limited sampling (Terziivanov et al 2003:1393–1409).

The application of population PK analysis in experimental pharmacology and pharmacokinetics is still not frequent but it might be especially suitable for studies on small laboratory animals like rats and mice, where the number of blood samples

per animal is extremely reduced and, commonly, the animals are killed when single blood sampling is obtained.

The study aimed at: 1. developing of a population PK model of caffeine in rats with one sampling point per animal, and 2. developing a population PK model of caffeine based on a D-optimal sampling strategy.

1. MATERIALS AND METHODS

1. Selection of Animals, Study Design and Blood Sampling

Development of population PK model of caffeine in rats (NPEM2-RATS)

White male Wistar rats, aged between 130 and 150 days, mean (SD) weight [kg] 0.282 (0.02) (Min, 0.24, Max, 0.32, Median, 0.28) were fasted overnight before oral administration of 5 mg.kg^{-1} body weight caffeine (CA) (as *Coffeinum purum*, Knoll) by a probe. Water was available *ad libidum*.

For the determination of caffeine plasma levels the animals was sampled only once according to the study protocol time table: at 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 hours after caffeine intake 2 animals were sampled per each of the above time points, while at 10, 12 and 24 hours post dosing 3 animals were sampled per time point. Since some of caffeine levels at the last 2 sampling times were under the lower limit of quantification (LLOQ = 0.022 mg.L^{-1}) the total number of caffeine plasma levels available for population PK analysis were 24 (Table 1).

Table 1. Measured caffeine plasma concentrations in 29 white male Wistar rats

Rat №	Sampling time [h]	Body weight [g]	Dose [mg]	Caffeine plasma concentrations [mg.L ⁻¹]
1.	0.5	265	1.325	2.05
2.	0.5	260	1.300	4.07
3.	1	300	1.500	3.76
4.	1	275	1.375	5.44
5.	2	320	1.600	4.03
6.	2	305	1.525	3.67
7.	3	260	1.300	2.76
8.	3	260	1.300	2.57
9.	4	280	1.400	2.13
10.	4	280	1.400	2.33
11.	5	285	1.425	1.55
12.	5	300	1.500	1.93
13.	6	305	1.525	1.5
14.	6	265	1.325	0.52
15.	7	300	1.500	0.15
16.	7	295	1.475	0.39
17.	8	240	1.200	0.11

18.	8	270	1.350	0.32
19.	9	265	1.325	0.47
20.	9	260	1.300	0.39
21.	10	305	1.525	0.22
22.	10	300	1.500	0.07
23.	10	295	1.475	0.16
24.	12	280	1.400	0.19
25.	12	260	1.300	< LOQ
26.	12	290	1.450	< LOQ
27.	24	270	1.350	< LOQ
28.	24	295	1.475	< LOQ
29.	24	310	1.550	< LOQ

A validated high-performance liquid chromatography assay for determination of caffeine plasma levels was used (Terziivanov et al 2003:1393-1409). Briefly, measurements were performed on Waters HPLC system with a photodiode detector set at 274 nm. The column was 10 μ m LiChrosphere 100 RP-18. The mobile phase consisted of 0.01 mol.L⁻¹ acetic acid:methanol:tetrahydrofuran (92:6:2, v/v/v). A flow rate of 1.5 ml.min⁻¹ and a pressure of 1500 psi were used. A volume of 0.50 ml plasma underwent a preparation according to a modification (Bojinova & Terziivanov 1997: 142-148) of the method of (Grant et al 1983: 591-602). Within- and between-day recovery (in %) for CA in plasma, expressed as means and CVs(%) were 87.53(5.83) (n=10 analyses) for within-day variability and 88.57(9.86) (n=3 analyses) for between-day variability, respectively. At a concentration of 0.24 mg.L⁻¹ the accuracy of the method (closeness of determined value to the true value) was 100%. At 2.4 mg.L⁻¹ it was 93.3%, and at 9.6 mg.L⁻¹ it was 97.2% (n = 4 measurements). The within-day coefficient of variation was below 15% for low, 7% for medium and 8% for high drug concentrations. Between-day coefficient of variation was below 20% for all samples. The calibration curve (from 0.022 mg.L⁻¹ up to 18 mg.L⁻¹) showed a high degree of linearity ($r = 0.99$, $p < 0.05$). The lowest amount of caffeine in a sample which was quantitatively determined with suitable precision and accuracy (lower limit of quantification, LOQ) was 0.022mg.L⁻¹. The concentrations bellow LOQ were considered to be zeros according to FDA Guidance for Industry (Bioanalytical Method Validation, September 2013, Revision 1).

To determine the assay error pattern over the entire working range of caffeine concentrations, from 0.022 mg.L⁻¹ to 18 mg.L⁻¹, the assay standard deviations were fitted to a second order polynomial equation. The resulted assay error model was:

$SD = 0.02162 + 0.01506C + 0.009253C^2$, where SD was the standard error of the assay and C was the measured caffeine plasma concentrations. The equation reflects a CV of 4.37% for the average, equal to 1.80 mg.L⁻¹, of all measured 24 caffeine concentrations. This equation was introduced into the NPEM2 program.

Actual population modelling consisted in of developing a population pharmacokinetic model using the nonparametric expectation maximization (NPEM2) algorithm (Schumitzky 1991:143-157), as implemented in USC*PACK collection of PC programs v.10.6. (Jelliffe et al 1995), based on sampled individual caffeine concentrations in rats. The NPEM method makes no assumptions about the shape of the joint probability distribution (j.p.d.). It computes the entire joint density or distribution of points, each of which contains a set of parameter values, and each of which has a certain probability (Jelliffe et al 1998:57-77). The only assumption made was equal discrete distribution shape of PK parameter values for all animals.

As previously reported (Bonati & Garattini 1988: 33-39; Terziivanov et al 2003:1393-1409) the one compartment PK model (1-COM) with first order input appropriately described caffeine disposition. Two types of parameterization were carried out: with the slope of volume of distribution to body weight, VS1 ($L.kg^{-1}$), the slope of caffeine plasma clearance to body weight, CLS1 ($L.h^{-1}.kg^{-1}$), and the absorption rate constant, KA (h^{-1}), or including the elimination rate constant, KEL (h^{-1}), instead of CLS1 as well. With both types of parameterization caffeine bioavailability was assumed to be 100% (Bonati & Garattini 1988: 33-39). In order to estimate individual caffeine clearances directly from plasma drug concentrations caffeine population PK model was subsequently parameterized with CLS1 instead of KEL. The individual values of the structural pharmacokinetic parameter estimates, resulting from NPEM2 analysis, were the means from each rat's Bayesian posterior joint density function (j.d.f.), if not stated otherwise. Caffeine population PK parameter values were presented as mean \pm standard deviation (SD).

There was a control group of 3 animals, which were treated *per os* with 0.9 % NaCl solution in a volume of 0.1 ml/0.1 kg animal body weight.

Development of optimal design population PK model of caffeine in rats based on D-optimality (NPEM2-OPT-design)

Once rats caffeine population PK model was elaborated the question arose about an optimal experimental design, as the best single design, for measuring of caffeine time concentrations. The theory of D-optimal strategy was applied (D'Argenio 1981: 739-755) as implemented in the program REUNEX (written by RW. Jelliffe). Briefly, a triple of time points were searched allowing caffeine structural PK parameters KA, VS1, and CLS1, to be assessed with the smallest variances, i.e. with the highest precision.

The analysis revealed the sampling times at 1, 7 and 10 hours after oral caffeine intake as the optimal experimental PK design. The population PK model, based on 7 optimal time concentrations, each taken from 1 rat (see Table 1), was considered as the optimal design caffeine PK model (NPEM2-OPT-design) allowing caffeine concentrations/time profiles to be depicted with the most credibility. This group of

7 animals was treated as **learning (training group)**. The mean body weight of the rats from this group was 0.296 ± 0.01 kg and did not differ significantly from the mean weight of the whole group of animals ($p=0.087$).

The predictive performance of caffeine optimal design PK model (NPEM2-OPT-design) was evaluated on 17 measured caffeine plasma concentrations, withdrawn from 17 rats, treated as **validation group**. These drug levels were used further for Bayesian forecasting based on 1 data point per validation group rat as a Bayesian *prior*. The predictive performance was measured as suggested by Sheiner & Beal (1981). The bias was evaluated as the mean prediction error, ME, the mean difference between observed and predicted drug concentrations. The precision was calculated as root mean squared prediction error, RMSE, and is equal to the square root of the mean squared prediction error which converts the measure of precision back into concentration units. Both measures of predictive performance were derived from the NPEM2 analysis.

The comparative goodness of both, NPEM2-RATS and NPEM2-OPT-design models was further evaluated based on WinPOPT (v.1.2.1.) criteria (Duffull et al 2008, *available on-line at* www.winpopt.org).

The ethics of all rat experiments was granted according to European ethical principles of animal experiments (*available on-line at* http://www.felasa.eu/media/uploads/Principles-practice-ethical-review_full%20report%20.pdf). The ethical framework of animal experiments was further approved by the University Grants Scientific Board.

Statistical assessments and graphics were performed by means of GraphPad PRISM v.2.01 and Microcal Origin 4.1.

The two-tailed Student *t-test* for evaluation of differences between means was used at level of significance $\alpha=0.05$.

2. RESULTS

Development of population PK model of caffeine in rats (NPEM2-RATS) (Step 1)

The means of caffeine structural pharmacokinetic parameters in humans (Terziivanov et al 2003:1393-1409) and in Wistar rats are listed in Table 2. There was no significant difference in the rate of caffeine absorption between rats and humans as assessed by the population means of KA as well as between the volumes of distributions, VS1, but a significant difference was observed in the rate of caffeine clearance between the both species as evaluated by CLS1 mean values (Table 2). In rats caffeine was about 3.4 times faster cleared in comparison to humans which agrees with the 2.3 folds higher drug elimination as assessed by KEL means. These results are in line with the data of (Bonati & Garattini 1988: 33-39; Bortolotti et al 1990: 285-295) which unambiguously indicate faster caffeine elimination in rats. Individual estimates of VS1 and KEL were not intercorrelated in this set of 24 rats (data not shown).

Table 2. Comparison between NPEM2 estimates of caffeine population PK model parameters in humans (NPEM2-HUM) (Terziivanov et al 2003) and in male Wistar rats from both population PK models (NPEM2-RATS and NPEM2-OPT-design)

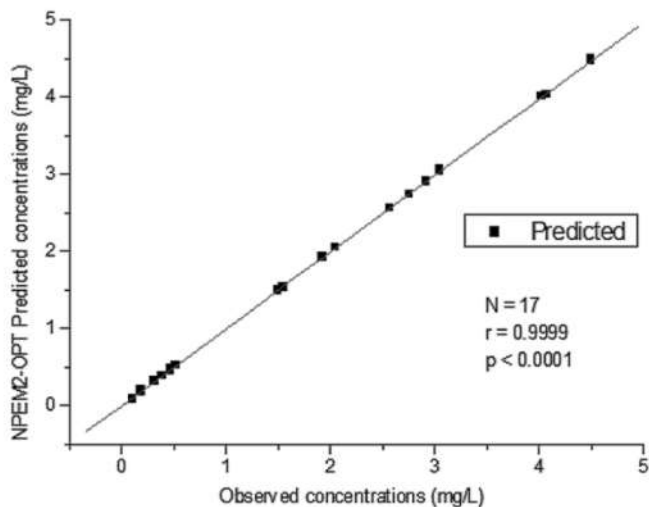
POPULATION PK PARAMETERS	NPEM2-HUM (n=34)	NPEM2-RATS (n=24)	NPEM2-OPT- design (n=7)
KA (h ⁻¹)	4.201 ± 3.482 (CV% = 83)	4.514 ± 3.262 (CV% = 72)	6.007 ± 3.402 (CV% = 57)
VS1(L.kg ⁻¹)	0.595 ± 0.304 (CV% = 51)	0.767 ± 0.614 (CV% = 80)	0.794 ± 0.610 (CV% = 77)
CLS1(L.h ⁻¹ .kg ⁻¹)	0.087 ± 0.073 (CV% = 83)	0.293 ± 0.150 [§] (CV% = 51)	0.241 ± 0.099 [§] (CV% = 41)
KEL (h ⁻¹)	0.170 ± 0.103 (CV% = 60)	0.384 ± 0.102 [§] (CV% = 27)	0.454 ± 0.089 [§] (CV% = 20)

[§] - p<0.0001. Comparison with the population model parameter estimates of NPEM2-HUM

Development of population PK model of caffeine in rats based on optimal experimental design (NPEM2-OPT-design) (Step 2)

The means of caffeine optimal design model PK parameters did not differ significantly from the model parameter means elaborated on 24 drug concentrations, NPEM2-RATS model (Table 2). On the other hand, as suggested by the smaller values of their coefficients of variation, the estimates of these parameters showed less diversity between animals.

Fig. 1. Scatter plot of observed vs individual model-predicted caffeine plasma concentrations (n = 17) using the individual maximum *a priori* (MAP) Bayesian posterior parameter values of KA, VS1 and CLS1, based on the population mean parameter values and their SDs as the MAP Bayesian *prior*s, in the set of animals (r = 0.9999, p < 0.0001). **CLS1**=fractional systemic caffeine clearance (slope of plasma clearance to body weight); **KA**=absorption rate constant; **VS1**=fractional volume of distribution (slope of volume of distribution to body weight).



The validation of NPEM2-OPT-design model was performed on 17 rats from the validation group, resp. 17 caffeine plasma concentrations used as Bayesian *priors*. Figure 1 depicts the goodness of fit between validation group measured caffeine levels and individual optimal design model predicted caffeine plasma concentrations. There was highly significant correlation between individual observed and population optimal design model predicted drug concentrations. The predictive performance of the optimal design population PK model was characterized by very low bias and high precision, $ME = -0.0077 \text{ mg.L}^{-1}$ and $RMSE = 0.012 \text{ mg.L}^{-1}$, both not significantly different from zero. The optimal design population model slightly underestimated measured caffeine concentrations. The good predictive abilities of NPEM2-OPT model were further supported when comparing ME and RMSE values with the average caffeine concentration measured in this set of animals equal to 1.937 mg.L^{-1} .

Figure 2 (a and b) depicts simulated caffeine concentrations/time curves of two randomly chosen rats with a measured drug concentration during the absorption phase (a), and elimination phase (b), resp. as a Bayesian *prior*. The simulations were performed by the optimal design population PK model NPEM2-OPT-design. It is evident from the both figures that the model equally well depicts the shape of concentrations/time curves based on one measured drug level during either phase.

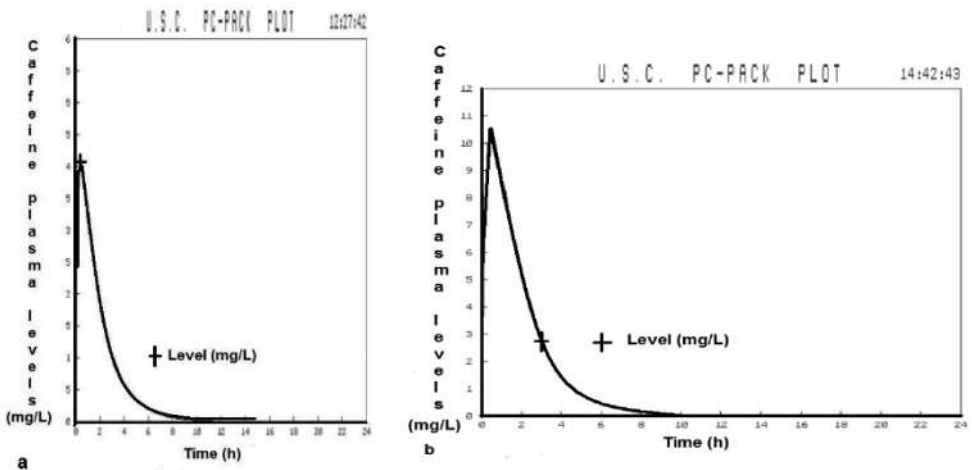


Fig. 2. Computer simulated caffeine plasma concentrations/time curves of two randomly chosen rats, assuming one compartment open disposition model of caffeine with first order absorption as implemented in the optimal design population PK model NPEM2-OPT-design, with:
 a. One measured caffeine concentration during the absorption phase as a Bayesian *prior*;
 b. One measured caffeine concentration during the elimination phase as a Bayesian *prior*.

Comparative goodness of NPEM2-RATS and NPEM2-OPT-design models (Step 3)

The comparison (Table 3) was performed based on the metrics and their estimator significance for interpretation of design optimality as described by Duffull et al (2008). The higher value of the determinant of NPEM2-OPT-design model over NPEM2-RATS model suggests higher degree of optimality for D-optimal design and the ratio of both criterion reveals that the efficiency of NPEM2-RATS model was only 35% as efficient as NPEM2-OPT-design model. The estimates of standard errors of fixed effects parameters suggest that at least for systemic caffeine clearance estimate D-optimal design provides higher utility (0.72% vs 3%, Table 3).

Table 3. Comparative goodness of NPEM2-RATS and NPEM2-OPT-design models

METRIC	NPEM2-RATS (n=24)			NPEM2-OPT-design (n=7)		
Determinant	8.66e+020			3.99e+024		
Criterion	414.19			1188.91		
Standard errors of fixed effect parameters (%)	CLS1	VS1	KA	CLS1	VS1	KA
	3	13	67	0.72	12	70

3. DISCUSSION

After the demonstration of caffeine N-demethylation activity of CYP1A2 by (Ioannides & Parke 1990:1-85) caffeine has been largely accepted as a safe and reliable probe for *in vivo* phenotyping for hepatic CYP1A2 activity (Tang et al 1994:117-124; Butler et al 1989: 7696-7700) as the enzyme is expressed essentially only in the liver (Butler et al 1989: 7696-7700; Guengerich 1995: 473-535). The enzyme activity demonstrates wide in-between variability (Schweickl et al 1993: 239-249; Butler et al 1992: 116-127). Interindividual differences in enzyme expression may contribute to cancers caused by procarcinogens and also can increase the risk of unexpected drug interactions (Kadlubar 1994: 37-46; Guengerich et al 1999: 115-124). Hence the need of reliable, fast and not expensive methods for assessing possible drug-drug interactions and drug-procarcinogens interactions mediated *via* cytochrome P450 CYP1A2. The standard experimental approach consists in using laboratory animals for these purposes.

Nowadays, the ethics of animal experiments gains increasing attention and concerns (http://www.felasa.eu/media/uploads/Principles-practice-ethical-review_full%20report%20.pdf). These higher ethical standards toward experiments with animals require application of research tools similar to those applied to humans. Poor data scenarios provide increased opportunity to enlarge the sample size instead of sampling points and thus to study in depth drug variability and to lessen the ratio

cost/effectiveness of animal experiments as well. When combined with optimal experimental design approach population PK modelling offers unambiguous advantages in comparison with conventional rich data scenarios of classical PK analysis. On the other hand, it meets the demands of ethical animal experiments as the number of used (and killed) animals is substantially reduced.

Conventional scenario to deal with small laboratory animals in experimental PK studies is to assign fewer animals per sampling point and to perform PK modelling of fewer concentrations/time curves generated by different animals within each curve. Thus, estimated PK model parameters values from performing PK analysis of each concentrations/time curve are not “individual” PK parameter estimates but rather “average” PK model parameter estimates for given concentrations/time curve generated from a set of sampled animals at the given time points. Another approach is to pool the concentrations data for each sampling point, to construct an “average” concentrations/time curve, further to submit it to PK analysis and to get an “average” estimates for a given set of PK model parameters.

Nonparametric population PK analysis offers distinct features to overcome these restrictions of conventional PK analysis and to get a set of really individual estimates for PK model parameters since the individual values of the structural pharmacokinetic parameter estimates, resulting from NPEM2 analysis, are measures of central tendency (means, medians or modes) from each animal’s Bayesian posterior joint density function (j.d.f.).

The results of this study confirm the ability of population PK analysis, based on sparse data protocol (Terziivanov et al 2003:1393-1409), to provide data similar to those obtained with data rich designs. The values of caffeine population PK model parameters, assessed with NPEM2 estimator, strongly agreed with those reported by Bonati and Bortolotti (Bonati & Garattini 1988: 33-39; Bortolotti et al 1990: 285–295) and point on feasibility of population PK analysis in experimental pharmacokinetics. Moreover, population PK analysis of limited sampling protocols can be successfully applied for pilot experimental studies aimed at getting estimates of model PK parameters for further use in designing of optimal experimental protocols, based on D-optimality. The application of optimal experimental design strategy resulted in elaboration of a D-optimal caffeine population PK model (NPEM2-OPT) whose validation revealed its reliable ability to foresee with high accuracy and precision measured caffeine concentrations in a set of rats. The seven optimal time concentrations, used to elaborate NPEM2-OPT-design PK model, provided essentially the same information about rats PK model parameters of caffeine as did the 24 rats blood samples.

We consider that the elaborated population PK models of caffeine (NPEM2-RATS and NPEM2-OPT-design) might be successfully applied for estimating the extent of involvement of CYP1A2 in drug metabolism as well as in drug-drug interactions. A useful feature of the NPEM method is its ability to discover unsuspected subpopulations in small ($N < 30$) and larger ($N > 30$) sampled populations

as well (Terziivanov et al 1998: 376-382, 2003:1393–1409; Jelliffe et al 1998: 57–77; Bustad et al 2006: 365–383).

On the other hand, the combined application of population PK modelling, based on sparse data protocols and nonparametric computational methods, with optimal experimental design strategy can offer cost effective and credible methodological tools for performing interspecies pharmacokinetic scalling (Boxenbaum 1984: 1071-1121; Campbell & Ings 1988: 469-479; Travis et al 1990: 285-304).

CONCLUSIONS

The results of this investigation pointed out that NPEM2 analysis is a reliable and sufficiently sensitive method to studying caffeine systemic disposition in small animals like rats. On the other hand, taken together with D-optimality study design data, these results reveal NPEM method as a suitable and relevant population PK analysis means for large-scale laboratory animal studies with regard to testing procarcinogenic potential of drugs and/or their hepatotoxicity by monitoring CYP1A2 activity based on random sparse data or on optimal experimental design protocols.

Based on this population model and on the optimal sampling strategy employed, it should now be quite feasible in the near future to screen drugs either for hepatotoxicity or for risk of carcinogenicity associated with unusual values of caffeine clearance.

Acknowledgements and Funding. The study analysis is based on data acquired with Sofia Medical University Grants #16/2003 and # 30/2004. The authors are very thankful to Drs. M. Gueorgieva and P. Borissova for their skilled technical assistance in working out of rats experiments.

The authors are deeply indebted to Roger W. Jelliffe, MD, for generously making available to them the USC*PACK collection of PC programs, v.10.6.

REFERENCES

- Bojinova, K., D. Terziivanov. Measurement of drug concentrations in biological fluids for the purposes of population pharmacokinetic analysis. I. Validation of HPLC assay for simultaneous determination of caffeine and its primary metabolites in blood and urine. *Analyt. Lab*, 1997, **6**: 142–148 (in Bulgarian)
- Bonati, M., S. Garattini. Pharmacokinetics of caffeine. *ISI Atlas Sci*, 1988, **2**: 33–39
- Bortolotti, A., G.L. Traina, A. Guaitani, E. Marzi, R. Latini, J.F. Young, M. Bonati, In vivo and perfused liver caffeine kinetics in the rat. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol*, 1990, **69**: 285–295
- Boxenbaum, H. Interspecies pharmacokinetic scalling and the evolutionary-comparative paradigm. *Drug Metab. Rev*, 1984, **15**: 1071–1121

- Bustad, A., D. Terziivanov, R. Leary, R. Port, A. Schumitzky, R. Jelliffe. Parametric and nonparametric population methods. Their comparative performance in analysing a clinical dataset and two Monte Carlo simulation studies. *Clin. Pharmacokinet*, 2006, **45**: 365–383
- Butler, M.A., M. Iwasaki, F.P. Guengerich, et al. Human cytochrome P450_{PA} (P450IA2), the phenacetin O-deethylase, is primarily responsible for the hepatic 3-demethylation of caffeine and N-oxidation of carcinogenic arylamines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, **86**: 7696–7700
- Butler, M.A., N. P. Lang, J.F. Young, et al. Determination of CYP1A2 and NAT2 phenotypes in human populations by analysis of caffeine urinary metabolites. *Pharmacogenetics*, 1992, **2**: 116–127
- Campbell, D.B., M.J. Ings. New approaches to the use of pharmacokinetics in toxicology and drug development. *Hum. Toxicol*, 1988, **7**: 469–479
- D'Argenio, D.Z.. Optimal sampling times for pharmacokinetic experiments. *J. Pharmacokinet. Biopharm*, 1981, **9**: 739–755
- Duffull, S., N. Denman, J. Eccleston, et al. WinPOPT User Guide version 1.2. Sch Pharm, Univ Otago, New Zealand, 2008. Available on-line at: www.winpop.org
- Federation of European Laboratory Animal Science Associations. PRINCIPLES AND PRACTICE IN ETHICAL REVIEW OF ANIMAL EXPERIMENTS ACROSS EUROPE. A report prepared by the FELASA Working Group on Ethical Evaluation of Animal Experiments. December 2005. Available on-line at: http://www.felasa.eu/media/uploads/Principles-practice-ethical-review_full%20report%20.pdf
- Food and Drug Administration Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation, September 2013, Revision 1.
- Grant, D.M., B. K. Tang, W. Kalow. Variability in caffeine metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther*, 1983, **33**: 591-602
- Guengerich, F.P., A. Parikh, R. J. Turesky, et al. Inter-individual differences in the metabolism of environmental toxicants: cytochrome P450 1A2 as a prototype. *Mutat. Res*, 1999, **428**: 115–124
- Guengerich, F.P. Human cytochrome P450 enzymes. In: *Ortiz de Montellano PR* (Ed). *Cytochrome P450*, 2n edn., Plenum, New York, 1995, 473–535
- Ioannides, C., D.V. Parke. The cytochrome P450 1 gene family of microsomal hemoproteins and their role in the metabolic activation of chemicals. *Drug Metab. Rev*, 1990, **22**: 1–85
- Jelliffe, R.W., A. Schumitzky, D. Bayard, M. Milmon, M. Van Guilder, X. Wang, F. Jiang, X. Barbaut, P. Maire. Model-based, goal-oriented, individualised drug therapy. *Clin. Pharmacokinet*, 1998, **34**: 57–77
- Jelliffe, R.W., A. Schumitzky, M. Van Guilder. User manual for version 10.6. of the USC*PACK collection of PC programs. Laboratory of Applied Pharmacokinetics. University of Southern California. School of Medicine, Los Angeles, 1995
- Kadlubar, F.F. Biochemical individuality and its implications for drug and carcinogen metabolism. Recent insights from acetyltransferase and cytochrome P450IA2 phenotyping and genotyping in humans. *Drug Metab. Dispos*, 1994, **26**: 37–46
- Schumitzky, A.. Nonparametric EM algorithms for estimating prior distributions. *Appl. Math. Comput*, 1991, **45**:143–157

- Schweikl, H., J.A. Taylor, S. Kitareewan, et al. Expression of *CYP1A1* and *CYP1A2* genes in human liver. *Pharmacogenetics*, 1993, **3**: 239–249
- Sheiner, L.B., S.L. Beal. Some suggestions for measuring predictive performance. *J. Pharmacokinet. Biopharm*, 1981, **9**: 503–512
- Steimer, J. L., et al. The population approach: Rationale, methods, and applications in clinical pharmacology and drug development (Chapter 15), in Welling, P.G. and L.P. Balant (eds.) *Pharmacokinetics of drugs* (Handbook of Experimental Pharmacology), Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 1994, **110**: 404–451.
- Tang, B.K., Y. Zhou, D. Kadar, et al. Caffeine as a probe for CYP1A2 activity: potential influence of renal factors on urinary phenotypic trait measurements. *Pharmacogenetics*, 1994, **4**:117–124
- Terziivanov, D., I. Atanasova, V. Dimitrova. Population pharmacokinetics of ciprofloxacin in patients with liver impairments analyzed by NPEM2 algorithm – a retrospective study. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther*, 1998, **36**: 376–382
- Terziivanov, D., K. Bozhinova, V. Dimitrova, I. Atanasova. Nonparametric expectation maximization (NPEM) population pharmacokinetic analysis of caffeine disposition from sparse data in adult Caucasians. Systemic caffeine clearance as a biomarker for cytochrome P450 1A2 activity. *Clin. Pharmacokinet*, 2003, **42**:1393–1409
- Travis, C.C., R.K. White, R.C. Ward. Interspecies extrapolation in pharmacokinetics. *J. Theor. Biol*, 1990, **142**: 285–304

Received: 29.04.2016

СЕРУМНИ МАРКЕРИ НА ВЪЗПАЛЕНИЕ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ПСОРИАЗИС

ГАЛИНА ЖЕЛЕЗОВА^{1*}, ГРИША МАТЕЕВ², БЛАГОВЕСТА ПЕНЧЕВА³,
СТАНИСЛАВА ЗЛАТЕВА³, РОСЕН МИХАЙЛОВ³, ЛЮДМИЛА ИВАНОВА⁴,
СНЕЖИНА ВАСИЛЕВА²

¹ Катедра „Биология, медицинска генетика и микробиология“,
Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

² Катедра „Дерматология и венерология“, Медицински факултет, МУ – София

³ Медико-диагностична лаборатория „Рамус“, София

⁴ Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

Увод: Псориазисът е хронична рецидивираща болест на кожата, съпроводена от системен възпалителен процес. Определянето на серумни маркери на възпалението е важно за диагнозата и терапията. Обект на интерес са hsCRP като класически индикатор за възпаление и IL-10 като анти-възпалителен цитокин.

Цел: Да се определят серумните нива на IL-10 и hsCRP при пациенти с псориазис вулгарис.

Методи: За определянето на IL-10 в серума беше използван ELISA метод, а за определяне на hsCRP - хемилуминисцентен имуноанализ. Бяха изследвани 20 пациента с диагноза псориазис вулгарис, заедно с 24 здрави лица, използвани като контролна група. При пациентите беше определен Psoriasis Area and Severity Index (PASI), като индикатор за клиничната тежест на заболяването.

Резултати: Резултатите от настоящото проучване показаха сигнификантно повишение на hsCRP при пациентите с псориазис в сравнение с контролната група (9 ± 11.78 mg/L и 2.09 ± 2.65 mg/L, $P < 0.05$). Определено беше снижение на IL-10 в серума на пациентите в сравнение с контролната група (0.68 ± 0.95 pg/ml и 1.44 ± 0.61 pg/ml, $P < 0.05$). Пациентите

* За контакти: Доц. д-р Галина Железова Железова София, УБ „Лозенец“, ул. „Козяк“ 1, Деканат, E-mail: gzhelezova@gmail.com Тел. 0889 603 330

с умерено тежки и тежки клинични форми показаха по-високи нива на hsCRP и по-нисък нива на IL-10 в сравнение с тези с леки клинични форми. Освен това, резултатите показаха значима корелация между клиничната тежест на заболяването и маркерите на възпаление – позитивна за hsCRP ($r = 0,477$, $P < 0,05$) и негативна за IL-10 ($r = - 0.445$, $P < 0.05$).

Заклучение: Определените повишени hsCRP и снижени IL-10 нива в серума на пациенти с псориазис vulgaris демонстрират връзка с тежестта на клиничните форми. Установена е корелация между активността на заболяването и изследваните маркери на възпаление.

Ключови думи: псориазис, IL-10, hsCRP

Galina Zhelezova, Grisha Mateev, Blagovesta Pencheva, Stanislava Zlateva, Rosen Michailov, Ludmila Ivanova, Snezhina Vassileva SERUM MARKERS OF INFLAMMATION IN PATIENTS WITH PSORIASIS

Background: Psoriasis is a chronic recurrent inflammatory cutaneous disease. Evaluation of inflammatory response with serum markers is important for diagnosis and therapy. Object of interest are hsCRP as classical indicator of inflammation and IL-10 as anti-inflammatory cytokine.

Objective: To determine the serum level of IL-10 and hsCRP in a series of patients with psoriasis vulgaris.

Methods: ELISA was used for quantitative measurement of the levels of IL-10 in the serum. For the determination of hsCRP was used chemiluminescent immunoassay. Twenty patients with psoriasis vulgaris, and 24 healthy individuals (control group) were included in the study. The Psoriasis Area and Severity Index (PASI) was determined in patients as indicator of clinical activity of the disease.

Results: The results of the present study showed a significant increase of hsCRP concentrations in plaque psoriasis patients, compared with controls (9 ± 11.78 mg/L and 2.09 ± 2.65 mg/L respectively, $P < 0, 05$). It was determined a significant decrease of IL-10 in sera of patients compared with those of the control group ($0, 68 \pm 0.95$ pg/ml and 1.44 ± 0.61 pg/ml, respectively, $P < 0.05$). Patients with moderate and severe clinical forms demonstrated higher levels of hsCRP and lower levels of IL-10, compared with those with mild clinical forms. Also, our results showed a significant correlation between clinical severity and markers of inflammation - positive for hsCRP ($r = 0,477$, $P < 0, 05$) and negative for IL-10 ($r = - 0.445$, $P < 0.05$).

Conclusions: The identified elevated hs-RP and decreased IL-10 levels in serum of patients with psoriasis have demonstrated an association with the severity of clinical forms. We determined correlation between disease activity and inflammatory markers in the serum of patients with psoriasis vulgaris.

Key words: psoriasis, IL-10, hsCRP

УВОД

Псориазисът е хронична инфламаторна дерматоза, която засяга приблизително 2–3% от човешката популация [Enamandram 2013: 287–289]. Съществуват различни клинични форми на заболяването, като най-често се среща Psoriasis vulgaris. Той се характеризира с наличие на множество еритемо-сквамозни плаки върху кожата с типична анатомична локализация. Патологичните лезии са резултат от хиперпролиферация и хиперплазия на повърхностните слоеве на епидермиса и се характеризират с инфилтрация от левкоцити в дермата и епидермиса. Етиологията на заболяването не е известна, но тя се свърз-

ва с наличие на генетична предизпозиция, имунологични фактори и влияние на различни фактори от околната среда [Bataille 2012:1067–1073].

Според съвременните схващания, псориазисът е системна възпалителна болест, в която участват автоимунни компоненти. Хроничният характер на възпалението, съпровождащо тази патология, предразполага пациентите към кардиовасуларни и метаболитни нарушения. Това определя псориазиса като потенциално мултисистемно заболяване [Singh 2011:553–556; Ryan 2015:41–55]. Както вроденият, така и придобитият имунитет имат значителна роля в патогенетичните механизми на псориазиса. Възпалението се медуира основно от Т лимфоцити, като ключова роля в патогенезата се отдава на лимфоцитните подтипове Th1 и Th17. Цитокините, синтезирани от тези клетки саважни в усилване на псориазисното възпаление, което в повечето случаи се отчита като нискостепенно и хронично [Nestle 2009: 496–509; Lowes 2014:227–255; van Beelen 2007:374–381].

Определянето на серумни биологични маркери на възпалението при псориазис представлява интерес в аспект на дефиниране на клиничната тежест на заболяването и мониториране на терапията. Обект на интензивни проучвания в тази насока са серумните нива на високоспецифичния С-реактивен протеин (hsCRP), както и на различни проинфламаторни цитокини.

Интерлекин 10 (IL-10) е имунорегулаторен цитокин, продуциран основно от Т лимфоцити и макрофаги. Той има имуносупресорна и антивъзпалителна функция и се счита, че участва в патогенезата на псориазиса. Резултатите от проучванията по отношение на значимостта на IL-10 като фактор, свързан с тежестта на клиничната картина при псориазис са недостатъчни и противоречиви.

Цел на настоящото проучване е определяне на серумните нива на hsCRP като проинфламаторен фактор и на IL-10 като анти-възпалителен цитокин при пациенти с псориазис вулгарис, както и потенциалната връзка между серумните им нива и клиничната тежест на псориазиса.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Характеристики на изследваните групи лица

За период от месец май 2012 до януари 2014 год са изследвани пациенти с диагноза псориазис вулгарис, хронична плакатна форма и различна клинична тежест на заболяването. Диагнозата е поставена в „Клиника по дерматология“ при университетска болница „Александровска“, Медицински Университет – София въз основа на анамнеза и клинични критерии. Изследваната група включва 20 пациента с диагноза псориазис вулгарис (16 мъже и 4 жени на възраст от 21 до 77 год., средна възраст 48.78 ± 19.4 год.). Пациентите не са получавали системно лечение поне месец преди проучването. В групата не са включвани лица с псориазисен артрит.

Изследвана бе и контролна група от 24 практически здрави лица с нормални хематологични и биохимични показатели (14 мъже и 10 жени на възраст 24–56 години, средна възраст 45.23 ± 12.4 год.).

Пробите кръв, необходими за проучването, бяха вземани след информирано съгласие на пациентите и контролните лица. Проучването бе извършено според правилата на Декларацията от Хелзинки от 1975 год с поправка от 2000 год, Закон за лекарствените продукти в хуманната медицина, както и според правилата за добра клинична практика.

Оценка на клиничната тежест на заболяването

Клиничната тежест на заболяването бе характеризирана чрез показателя Psoriasis Area and Severity Index (PASI). Според този показател 7 от болните бяха определени като леки клинични форми (PASI < 10) и 13 като умерено тежки и тежки клинични форми, (PASI > 10).

Определяне на серумните концентрации на IL-10 и hsCRP

Кръвни проби от пациенти и контролни лица бяха събирани и центрофугирани 15 минути при $1000 \times g$ за отделяне на серум. Получените серуми бяха разделяни в малки количества и съхранявани чрез замразяване при $-20^\circ C$ до момента на изследването. За определяне на IL-10 беше използван търговски ELISA кит (Human IL-10 ELISA Kit, Invitrogen), съдържащ специфично моноклонално антитяло срещу IL-10. Определянето беше извършено според инструкциите на производителя.

Определяно бе серумното ниво на високо-чувствителния C-реактивен протеин (hsCRP), който е прецизен маркер за определяне на ниските концентрации на CRP при здрави лица и при заболявания, съпроводжани от хронично нискостепенно възпаление. За определяне на hs-CRP бе използван хемилуминисцентен имуноанализ.

Статистически анализ

Статистическият анализ на данните бе извършен чрез Microsoft Excel статистически програми. За определяне на количествени показатели беше използван вариационен анализ с определяне на средни стойности и тяхното стандартно отклонение. Корелационният анализ беше извършен чрез определяне на Pearson's корелационен коефициент. Стойности на $P < 0.05$ бяха определяни като статистически сигнификантни.

РЕЗУЛТАТИ

Серумни нивана IL-10 и hsCRP

Статистическият анализ показва, че серумните нива на IL-10 при цялата изследвана групата пациенти с псориазис ($n=20$) са по-ниски в сравнение с

тези при контролната група здрави лица (Табл. 1). Установени бяха средни стойности от $0,68 \pm 0.95 \text{ pg/ml}$ при болните и $1.44 \pm 0.61 \text{ pg/ml}$ при здравите лица, $P < 0.05$.

Установено беше също така статистически значимо повишениена нивата на hsCRP при групата с псориазис – $9 \pm 11.78 \text{ mg/L}$, в сравнение с контролната група – $2.09 \pm 2.65 \text{ mg/L}$, $P < 0,05$, (Табл.1).

Таблица 1. Серумни нива на IL-10 и hsCRP при пациенти с псориазис.

Група/Изследван показател	Пациенти n=20	Контролна група n=24	P
IL10 (pg/ml)	$0,68 \pm 0.95$	1.44 ± 0.61	< 0.05
hsCRP(mg/L)	9 ± 11.78	2.09 ± 2.65	< 0.05

В таблица 2 са представени резултати за нивата на IL-10 и hsCRP при пациентите с псориазис в зависимост от клиничната тежест на заболяването. В групата на умерено тежките и тежки клинични форми бяха установени по-високи нива на hsCRP в сравнение с групата на леките клинични форми – $12.78 \pm 13.9 \text{ mg/L}$ и $2.01 \pm 1.91 \text{ mg/L}$ респективно, $P < 0,01$. По отношение на IL-10 бяха установени по-ниски стойности при пациентите с умерено тежки и тежки клинични форми в сравнение с тези с леки клинични форми – $0.33 \pm 0.48 \text{ pg/ml}$ и съответно $1.34 \pm 0.89 \text{ pg/ml}$, $P < 0.05$.

Таблица 2. Серумни нива на IL10 и hsCRP при пациенти с различна клинична тежест на псориазис.

Група/Изследван показател	Пациенти с леки клинични форми n=7	Пациенти с умерено тежки и тежки клинични форми n=13	P
IL10 (pg/ml)	1.34 ± 0.89	0.33 ± 0.48	< 0.05
hsCRP(mg/L)	2.01 ± 1.91	12.78 ± 13.9	< 0.01

Корелация на IL-10 и hsCRP с клиничната тежест на заболяването

Установена бе положителна корелация между PASI и нивата на hsCRP при 20-те изследвани пациенти с псориазис ($r = 0,477$, $P < 0,05$). Корелация, но с отрицателен знак бе определена между IL-10 и PASI, ($r = - 0.445$, $P < 0.05$) при изследваната група болни.

Дискусия

Острофазовият С-реактивен протеин (CRP) е класически маркер за възпаление, който се индуцира от проинфламаторна група цитокини и се уста-

новява значително повишен най-често при остри бактериални инфекции. Възможността да се използват методи, определящ стойностите на CRP в техния нисък диапазон (hsCRP), позволява проследяване на нискостепенното хронично възпаление, което е характерно за редица заболявания, включително и псориазис. Повечето проучвания определят CRP като серумен маркер на възпалението, който корелира с активността на болестта, определяна чрез PASI [Coimbra 2014: 15–27]. Това се потвърждава и от факта, че след успешна терапия концентрациите на този цитокин спадат значително [Isha 2011: 309–311]. Резултатите от нашето проучване също показваха, че пациентите с псориазис имат повишени концентрации на hsCRP, които корелират с активността на заболяването. Тези резултати подкрепят тезата, че заболяването псориазис е с характер на системно хронично възпаление.

По отношение на серумните нивата на IL-10 при пациентите с псориазис, нашите резултати показваха, че те са снижени в сравнение с контролната група и че се характеризират с отрицателна корелация по отношение на активността на заболяването.

Такива резултати се представят и от други автори [Takahashi 2010: 645–649; Al-Zeeady 2013: 126–134]. В същото време, други автори намират повишени концентрации на IL-10 при пациенти с псориазис [Borska 2008: 800–805; Deeva 2010: 163–170].

Дефицит на IL-10 се установява от някои автори не само в серума, но и в кожата на пациенти с псориазис, чрез определяне експресията на IL-10 mRNA [Asadullah 1998: 783–94]. Интерес представлява фактът, че при пациентите с псориазис, успешната терапия води до по-високи нива на експресия на IL-10 mRNA в периферни мононуклеарни клетки в сравнение с тези преди терапията. Това предполага, че IL-10 би могъл да има потенциално терапевтично антипсориазично действие. Такъв ефект е установен при проучване, съчетаващо фототерапия с терапия с група цитокини, включващи и IL-10 [Hautarzt. 2015: 849–54]. Тези резултати дават идея за нови терапевтични стратегии, които изискват по-детайлно проучване.

ИЗВОДИ

Резултатите от нашето проучване потвърждават участието и значимостта на IL-10 в процесите на възпаление, характерни за псориазис vulgaris. Установените повишени стойности на hsCRP и снижени нива на IL-10 в серума на пациенти с това заболяване, показват зависимост от тежестта на клиничните форми. Определена бе корелационна зависимост между PASI, като показател за активността на заболяването и изследваните инфламаторни маркери - положителна по отношение на hs CRP и отрицателна по отношение на IL-10.

ЛИТЕРАТУРА

- Al-Zeeady, F., M.A. Al-Dhalimi, M. M. AL-Sahlawee. J. Kerbala Univ., 2013, **11**, 126–134.
- Asadullah, K., W. Sterry, K. Stephanek et al. J. Clin. Invest., 1998, **101**, 783–794.
- Bataille, V., M. Lens, T.D. Spector. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol., 2012, **26**, 1067–1073.
- Borska, L., C. Andrys, J. Krejsek et al. Int. J. Dermatol., 2008, **47**, 800–805.
- Coimbra, S., A. Santos-Silva. World J Dermatol, 2014, **3**, 15–27.
- Deeva, I., S. Mariani, C. De Luca, et al. Cytokine, 2010, **49**, 163–170.
- Enamandram, M., A.B. Kimball. J. Invest. Dermatol., 2013, **133**, 287–289.
- Isha, V.K., H. Lal. Indian J ClinBiochem., 2011, **26**, 309–311.
- Lotti, T. Hautarzt, 2015, **66**, 849–854.
- Lowes, M.A., M. Suárez-Fariñas, J.G. Krueger. Annu. Rev. Immunol., 2014, **32**, 227–255.
- Nestle, F.O., D.H. Kaplan, J. Barker. N. Engl. J. Med., 2009, **361**, 496–509.
- Ryan, C., B. Kirby. Dermatol.Clin. 2015, **33**, 41–55.
- Singh, G., S.P. Aneja. Indian J Dermatol. 2011, **56**, 553–556.
- Takahashi H., H. Tsuji, Y. Hashimoto et al. Clin. Exp.Dermatol., 2010, **35**, 645–649.
- van Beelen, A.J., M.B. Teunissen, M.L. et al. Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol., 2007, **7**, 374–381.

Дата на постъпване: 11.03.2016 г.

РЕФЕРЕНТНИ СТОЙНОСТИ ЗА ПРИЕМ НА ЙОД СПОРЕД ВЪЗРАСТТА И ФИЗИОЛОГИЧНОТО СЪСТОЯНИЕ

ЛЮДМИЛА Б. ИВАНОВА^{1*}, РАЛИЦА Б. ИВАНОВА²

¹ Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

² УСБАЛЕ „Акад. Иван Пенчев“, Клиника по тиреоидни и метаболитни костни заболявания, София

Йодът е есенциален микроелемент, който чрез хормоните на щитовидната жлеза участва в редица важни функции на организма. Значието на йода е особено важно за формиране на мозъчните структури по време на вътреутробното развитие. Дори лек йоден дефицит по време на бременност може да доведе до редица мозъчни нарушения с необратими последици за физическото и когнитивното развитие на детето. Определяне на адекватния прием на йод за различни възрастови групи и физиологични състояния има важно значение за предотвратяване на йоддефицитните състояния. Направен е преглед на методите и критериите за определяне на референтните стойности за прием на йод и са разгледани последните международни препоръки както и някои национални норми. Анализът на отделните препоръки позволява да се определят бъдещи насоки за оценка на адекватността на йодния прием.

Ключови думи: йод, адекватен прием, референтни стойности в зависимост от възрастта, препоръки за прием на йод при бременност и лактация

Ludmila B. Ivanova, Ralitz B. Ivanova. DIETARY REFERENCE INTAKES OF IODINE BY AGE AND PHYSIOLOGICAL STATUS

Iodine is an essential trace element, which through thyroid hormones is involved in many important body functions. Thyroid hormones are essential for brain maturation, and for the

* За контакт доц. Д-р Людмила Иванова, дм, Медицински факултет, СУ „Св. Кл. Охридски“, Болница „Лозенец“, е-мейл: ludmilabivanova@gmail.com

formation of brain structures not only during fetal development but for brain function throughout life. Even a mild iodine deficiency during pregnancy can cause a number of brain disorders with irreversible consequences for the physical and cognitive development of the child. Determining the adequate iodine intake for different age groups and physiological conditions is essential to prevent iodine deficiency disorders of the population. It is reviewed the methods and criteria for setting the reference intake values for iodine and recent international recommendations as well as some national standards. Analysis of recommendations allows determining future directions for assessing the adequacy of iodine intake.

Key words: iodine, adequacy of iodine intake, reference values according to age and recommendations for iodine intake in pregnancy and lactation period

ВЪВЕДЕНИЕ

Йодът е есенциален микроелемент, структурен и функционален компонент на хормоните на щитовидната жлеза тироксин (Т4) и трийодтиронин (Т3). Посредством тези хормони той участва в енергийния метаболизъм и в генната експресия и въздейства върху редица физиологични функции – ембриогенеза, растеж, формиране на мозъчните структури и когнитивните функции. Недостатъчният прием на йод крие редица рискове за здравето сред които са заболявания на щитовидната жлеза, спонтанни аборти, забавено вътреутробно развитие и нарушения в развитието на мозъка на плода, което при тежък недостиг на йод може да доведе до кретенизъм. Особено висок е рискът когато по време на бременността и в ранната детска възраст йодният прием е неадекватен, поради отрицателните последствия за мозъчното развитие (WHO/UNICEF/ICCIDD 1994; WHO/UNICEF 2007; Zimmermann 2009: 1584–1595; Vouga et al 2013: 1384–1416). Нисък прием на йод от бременната жена води до йоден дефицит на плода, което засяга ранното формиране на мозъчните структури с последствие забавяне на физическото и ментално развитие и намалена когнитивна и моторна ефективност в по-късна възраст (Zimmermann 2012: 108–117).

На популационно ниво йодният прием се измерва чрез определяне концентрацията на йод в случайна порция урина и се оценява на база на медиана на група на деца в училищна възраст при прилагане на следните критерии: медиана на йодурия < 20 µg/L е показател за много нисък прием съответстващ на тежък йоден дефицит; медиана на йодурия 20–49 µg/L – нисък йоден прием, съответстващ на умерен йоден дефицит и медиана на йодурия 100–199 µg/L – адекватен йоден прием (WHO, ICCIDD, UNICEF 2007, 32–33). Обсъжда се доколко определянето на йод в единична порция урина може да отрази реалния йоден прием на групата, но за сега този подход е най-широко прилаган при оценка на йодния прием на популационно ниво. Резултатите от епидемиологични изследвания върху ученици показват, че с прием на йод < 100 µg/L, което отразява нисък прием и създава сериозен здравен риск е 44% от населението в Европа. (Andersson et al. 2012: 744–750). Определяне

на потребностите от йод и дефинирането на референтни стойности според възрастта и физиологичното състояние е съществен момент при оценка на степента на адекватност на хранителния прием на йод и условие за профилактика и контрол на йодния дефицит.

РЕФЕРЕНТНИ СТОЙНОСТИ – ПРИНЦИПИ И КРИТЕРИИ ПРИ РАЗРАБОТВАНЕ

Референтните стойности за прием представляват количествен израз на универсалните потребности на човек от есенциални хранителни вещества и служат за оценка на хранителната адекватност на диетата. Те се разработват за създаване на единни, базирани на доказателства количествени стойности на хранителните потребности. Представляват групови препоръки, но могат да се използват както за оценка на индивидуалния хранителен прием така при епидемиологични изследвания за определяне на вероятността за адекватен прием на популационната група. Референтните стойности се прилагат при планиране на индивидуални диети, етикетирание и представяне на хранителна информация, разработване на критерии за интервенционни програми и хранителни политики (Dwyer 2012: 110–1134).

Основа за определяне на референтните стойности за прием на хранителни вещества е статистическото разпределение на индивидуалните потребности, по предварително дефинирани критерии, при лица групирани по пол, възраст, двигателна активност и физиологично състояние. Референтните стойности за прием задоволяват нуждите на 97,5% от индивидите в съответната група и са определени като средна потребност на групата с добавени две стандартни отклонения. За определянето им се използват данни от проучвания върху хора и експериментални животни (проучвания за изчерпване/възстановяване, изследвания доза-отговор, балансови, факториални, чрез прилагане на биомаркери и белязани атоми и др. (Younger 2009:122–131). В хода на разработване на референтните стойности за хранителен прием са възприемани различни критерии според които приема може да бъде определен като „оптимален“ за предотвратяване на хранителни дефицити, за поддържане на адекватни телесните депа, за гарантиране на оптимални биохимични и физиологични функции, за свеждане до минимум на риска от хронични заболявания и ограничаване на специфична свързана с конкретния нутриент заболяемост (Expert Group on Vitamins and Minerals 2003:208–213). В терминологичен аспект понятието „референтна стойност“ също е претърпяло еволюция – от прескриптивен характер какъвто е „препоръчителен хранителен прием“ (у нас – „физиологични норми“) до „референтни стойности за хранителен прием,, , „референтен популационен прием“ към които напоследък са дефинирани и добавени „минимални хранителни потребности“ и „горна граница за нерисков прием“. Отделните понятия включват задоволяване на потребностите на

различно ниво – за поддържане на нормални телесни резерви, за гарантиране на нерисков хранителен прием, както и гарантиране на адекватен функционален капацитет и намаляване на риска от заболявания свързани с конкретния нутриент (EFSA 2006: 135–151).

ПОДХОДИ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА РЕФЕРЕНТНИТЕ СТОЙНОСТИ ЗА ПРИЕМ НА ЙОД

Референтните стойности за прием на йод дефинирани като препоръки за „адекватен прием“ са определени експертно на база анализи както на епидемиологични, балансови и факториални изследвания като всеки един от тези методи показва известни слабости поради особеностите на функционалната роля на микроелемента. Резултатите от балансови проучвания дават висока вариабилност при които нулев баланс се постига при много различен прием който се влияе от обичайния прием на йод, което затруднява сравняването на популации с адекватен прием и такива с продължителен йоден дефицит. Същото се отнася и за количеството каптиран йод в щитовидната жлеза. (Malvaux 1969: 79–84) Липсват достатъчно доказателства за определяне на йодните потребности чрез факториалния метод при който трябва да се изчисляват нуждите от йод за синтез на тиреоидни хормони и депониране в щитовидната жлеза както и екскрецията на йод с урина, фекалии и пот. Не са достатъчно проучени и други свързани с приема на йод функции като когнитивното развитие при деца, рак на щитовидната жлеза и суб-клинични тиреоидни нарушения при възрастни индивиди поради което те не са използвани като критерии за определяне на йодните потребности. Основната роля на йода в организма е за синтеза на тиреоидните хормони, което изисква постоянен адекватен прием. Недостатъчното количество йод води до хипотироксинемия, с последствие проемни в TSH изразено с промени в обема на щитовидната жлеза, поради което ехографското измерване се разглежда като интегрален показател за оценка на средно – до дългосрочен прием на йод. Този показател не се влияе от краткосрочни промени в приема на йод и по този начин се елиминират до голяма степен източниците на вариабилност и несигурност които се наблюдават при метаболитни или балансови проучвания (WHO/UNICEF/ICCIDD 2007: 36–37). Съществуващите данни от епидемиологични проучвания дават основание да се счита, че йодните потребности не показват полови различия. Възприет бомаркер за прием на йод е концентрацията на йод в урината. Установена е обратна нелинеарна корелационна зависимост между концентрацията на йод в урината и честотата на гуша сред дадена популация, като при дискриминативна стойност йодурия над 100 µg/L гушавостта сред популационна група от деца в училищна възраст е под 5% поради което се счита, че тази стойност отразява адекватен прием. Независимо, че този дискриминативен праг е определен при проучвания на ученици на възраст 6–12 години се приема

че той е валиден и за възрастни индивиди. Концентрация на йод в урината от 100 µg/L съответства на дневен прием на йод от 150 µg като се има предвид, че над 90% от приетият йод се елиминира по този път. (Laurberg 2007: 1547–1552). Според някои проучвания оптималният дневен прием на йод трябва да бъде поддържан в тесни граници около 150 µg, тъй като дори при лек йоден дефицит йодната суплементация може да увеличи риска от хипертиреозидизъм. (Pedersen 2007: 3122–3127) Дискриминативният праг на концентрация на йод в урината от 100 µg/L който отразява адекватен прием на йод е приложен и при деца на възраст под 24 месеца както и за лактиращи жени (WHO 2007). Когато концентрацията на йод в урината при новородени и малки деца е под прага от 50–60 µg/L се наблюдава повишение на неонаталния TSH над 50 mU/ml което е индикатор за субклиничен хипотиреозидизъм евентуално усложнен с транзиторен неонатален хипотиреозидизъм (Delange 1989: 173–185; Pedersen 2007: 3122–3127).

За определяне на йодните потребности по време на бременност повечето съвременните проучвания са насочени по-скоро към установяване на връзка между функционалното състояние на щитовидната жлеза и някои патологични клинични състояния на майката и новороденото, а не връзката между йодния прием и тези състояния тъй като е невъзможно да бъдат приложени балансовия или факториалния методи (Gunnarsdottir 2012:19731). Не е възможно да бъдат установени категорични зависимости „доза-ефект“ между приема на йод и изхода на бременността имащи отношение към майката и новороденото. Потребностите могат да бъдат изведени чрез факториалния метод като се вземат предвид допълнителните нужди свързани с настъпващите промени в хормоналния и йодния метаболизъм при бременната и със синтеза на феталните тиреоидни хормони.

РЕФЕРЕНТНИ СТОЙНОСТИ ЗА ПРИЕМ НА ЙОД НА РАЗЛИЧНИ ВЪЗРАСТОВИ ГРУПИ

Потребностите от йод се дефинират според възрастта и физиологичното състояние без диференциране по пол. Редица екзогенни и ендогенни фактори имащи отношение към метаболизма на йода, като композиция на диетата (наличие на инхибиращи субстанции), някои съпътстващи хранителни дефицити и други фактори от околната среда могат да окажат влияние върху индивидуалните потребности от микроелемента. (Zimmermann 2012: 554–567). Според последните европейски препоръки референтните стойности за йод са дефинирани като стойности за „адекватен прием“ (EFSA 2014). „Адекватен прием“ представлява препоръчаният среднодневен прием определен експериментално или чрез изчисляване на среден, приет за адекватен, хранителен прием на група (групи) здрави индивиди. Понятието „адекватен прием“ се използва когато липсват достатъчно данни които позволяват да бъде опре-

делен процентът на индивидите в групата със задоволени потребности от нутриента, като се приема че адекватният прием задоволява потребностите на цялата група.

Съветът по храни и хранене на Националната академия на науките и Института по медицина на САЩ през 2001 година предлага понятието „адекватен прием“ за йод да се приложи само за кърмачета и малки деца на възраст до 12 месеца, а за всички останали групи – деца, възрастни, бременни и лактиращи жени да се прилага „препоръчителен хранителен прием“ (DRI, NAS, IOM 2001:1–33). Поради липса на функционални критерии за йоден статус при кърмачетата, който да отразява йодния прием за „адекватен прием“ при тях е възприето средното количество йод получено от майчината кърма при изключително кърмени деца. „Адекватно“ съдържание на йод в кърмата се счита стойността 146 $\mu\text{g/L}$, установена при лактиращи американски жени които консумират йодирана сол. При съобразяване със средната концентрация на йод в кърмата на майки с достатъчен прием на йод, количеството отделена кърма и йодната екскреция с урината на деца от 0 до 6 месеца, определеният адекватен йоден прием за тази възрастова група е 110 $\mu\text{g/ден}$, а чрез екстраполация, при възрастовата група 7–12 месеца е 130 $\mu\text{g/ден}$. Препоръчаните стойности за кърмачета на Института по медицина на САЩ са по-високи от стойностите предложени от EFSA през 2014 година. Европейските препоръки са изчислявани на база 15 $\mu\text{g/кг т.м.}$ (телесна маса) йод на ден (30 $\mu\text{g/кг т.м}$ при деца родени преди термина), която е минималната стойност необходима за поддържане на положителен йоден баланс при доносни новородени и малки деца (Delange 1993: 492–507). Отнесени на килограм телесна маса препоръките за тази възраст са 90 $\mu\text{g/ден}$ и съответстват на международните препоръки на СЗО, които се отнасят за деца в по-широк възрастов интервал от 0–24 месеца и поддържат нормални стойности на тиреотропен хормон (TSH), което изключва хипотиреозидизъм. (WHO/FAO 2004: 341). Тъй като липсват сравнителни данни за усвояемостта на йода от майчината кърма и от формулираните млека за кърмачета, факторът „биоусвояемост“ не е съобразяван при определянето на адекватен йоден прием за тези възрастови групи (WHO Secretariat 2007: 1606–611). Отнесени на килограм телесната маса потребностите от йод прогресивно намаляват с възрастта. Независимо, че СЗО/FAO (WHO/FAO 2004: 301–315) посочва стойностите на йод/ кг т.м. които поддържат положителен йоден баланс за някои възрасти (6 $\mu\text{g/кг/ т.м.}$ – 2–5 г; 4 $\mu\text{g/кг/ т.м}$ – 6 –12; 2 $\mu\text{g/кг/ т.м}$ > 13 г), при липса на едновременно определяне на специфични за тиреоидната функция маркери е много трудно данните от балансови изследвания да се свържат с функционалното състояние на щитовидната жлеза. Повечето от експертните групи използват сходни подходи при определяне на препоръките за прием на йод при деца, но въпреки това има известни различия в отделните национални препоръки и референтни групи. Например за деца под пет годишна възраст препоръчаната референтна

стойност от СЗО (2004) и ИОМ (2001) е 90 µg/ден. Същата стойност в Швейцария (2013) се препоръчва за деца до 7 годишна възраст, а EFSA (2014) до 10 годишна възраст.(EFSA 2014:18). (табл. 1.)

Таблица 1. Референтни стойности за прием на йод според различни международни източници

Възраст/йод µg/ден	EFSA 2014 (AI-адекватен прием)	Швейцария, 2013	WHO/FAO 2004, WHO Secretariat 2007	ИОМ 2001 ¹ AI ² препоръчи- телен прием
<i>Месеци</i> йод, µg/ден		50	0–24	0–6 ¹ 110
<i>Месеци</i> йод, µg/ден	7–11 70	4–12 50	90	7–12 ¹ 130
<i>години</i> Йод, µg/ден	1–3 90	1–4 90		1–3 ² 90
<i>години</i> Йод, µg/ден	4–6 90	4–7 90	2–5 90 (6 µg/kg/ден)	4–8 90
<i>години</i> йод, µg/ден	7–10 90	7–10 120	6–12 120 (4 µg/kg/ден)	9–13 120
<i>години</i> йод, µg/ден	11–14 120	10–13 120	> 13 150 (2 µg/kg/ден)	14–18 150

Източник: European Food Safety Authority (EFSA) 2014: 20–22.

Като база за последните препоръки за адекватен йоден прием са използвани резултатите от мащабни изследвания сред европейски деца с различен йоден прием и с широки граници на йодурия от 20 до 140 µg/L при които е установено, че най-ниска честота на гушавост от 2–3% се наблюдава когато медианата на концентрация на йод в урината надхвърля 100 µg/L, което съответства на прием на йод в интервала 120 – 150 µg/ден, приет за „адекватен“ (Delange 1997:180–187). В случая критерият за адекватен йоден прием при детска популация на 7–10 годишна възраст е приетото количество йод (оценено чрез екскреция на йод в урината) което свежда до минимум риска от хиперплазия на щитовидната жлеза. Медиана на йодурията под 100 µg/L се свързва не само с увеличен обем на щитовидната жлеза, но и с по-високи стойности на TSH и Tg в серума което е проява на тиреоидна дисфункция. (Wayne 1964: 330–331). За адекватен йоден прием на популация от здрави индивиди на възраст > 18 години е приета стойност на йодурия 150 µg/ден и поддържане на обема на щитовидната жлеза в нормални граници, екстрапо-

лирана от изследвания върху популация на деца в училищна възраст. (Delange 1994: 107–128) В някои национални „норми“ стойността 150 µg/ден е посочена като популационен препоръчителен прием дори над 13 годишна възраст (Швейцария) или след 14 години (ИОМ). СЗО/ФАО предлагат стойността от 150 µg/ден (2,0 µg/kg т.т./ден) йод да се приеме „адекватен прием“ за юноши и възрастни лица от двата пола, тъй като това количество йод съответства на средната дневна йодурия на популации в неендемични райони с адекватен йоден прием (Bottazzo 1981: 13A; Delange 1994: 107–128) и за поддържане на средната концентрация на йод в плазмата над 1 µg/L което намалява вероятността за поява на гуша (Wayne et al 1964:303–331). Това е количеството, което поддържа запасите на йод в щитовидната жлеза не по-малко от 10 mg, тъй като по-ниското съдържание повишава риска от нарушаване на синтеза на тиреоидни хормони.

РЕФЕРЕНТНИТЕ СТОЙНОСТИ ЗА ПРИЕМ НА ЙОД ПРИ БРЕМЕННОСТ И ЛАКТАЦИЯ

При бременни и лактиращи жени потребностите от йод се повишават значително, свързано с физиологичните промени които настъпват при тези състояния – по-високата екскреция на йод с урината поради повишен бъбречен клирънс на йода и повишена акреция на микронутриента в млечните жлези при лактация, което зависи от отделеното количество йод с кърмата и продължителността на кърмене (Azizi 2009: 803–809). По време на бременност продукцията на тиреоидни хормони нараства с около 40%-50%, поради което е необходимо при жени на заместителна с тиреоидни хормони терапия дозата да бъде съответно увеличена, така че стойностите на T4 и TSH в серума се поддържат в нормални тримесътен специфични граници. Установено е, че при 75% абсорбция на тироксина, допълнителният прием на йод по време на бременност, необходим за синтез на тиреоидни хормони при жени в адекватен йоден статус преди забременяване трябва да бъде 20–29 µg /ден (Alexander 2004: 241–249; Bath 2013: 1345). Освен за гарантиране на хормоналния синтез на бременната към йодните потребности се добавя и количествата йод депонирани в плацентата (18–100 µg), амниотичната течност (15 µg), феталната тиреоидея (100–300 µg) и в кръвта на фетуса (10 µg), които преизчислени на дневна база са пренебрежимо ниски и представляват не повече от 1µg/ ден. Имайки предвид адаптационните механизми, които настъпват по време на бременност и това, че най-голяма част от йодните потребности са насочени за поддържане на хормоналния тиреоиден синтез на майката увеличението на йодния прием е приблизително 50 µg/ден при положение, че жената е с адекватен тиреоиден статус и достатъчни йодни резерви до забременяване или тоталният прием трябва да достигне 200–250 µg/ден. Препоръките на EFSA за прием на йод от бременни и лактиращи жени

са 200 µg/ден, тъй като се приема, че болшинството от жените в Европа имат адекватни йодни резерви преди забременяване. За разлика от тези стойности Консултативната експертна група на СЗО препоръчва повишаване на хранителен прием на йод при бременност и лактация от 200 на 250 µg/дневно, което съответно променя и референтните граници на йодурия за бременни жени на 150–249 µg/L които са по-високи от тези на общата популация. Тези стойности могат да бъдат постигнати чрез консумация на йодирана сол при универсално йодиране на солта както и чрез допълнително суплементиране с йод-съдържащи препарати. (WHO/ICCIDD/ UNICEF 2007). При бременност и лактация за „ексцесивен“ йоден прием се считат количества над 500 µg дневно които надвишава стойността необходима за превенция и контрол на йодния дефицит и не оказват допълнителни ползи за здравето (EU Scientific Committee on Food 2002:18–19).

ГОРНА ГРАНИЦА НА НЕРИСКОВ ПРИЕМ НА ЙОД

„Горна граница за нерисков прием“ е най-високата стойност която може да се приема дневно от даден нутриент, която оказва положителен за здравето ефект без да създаде допълнителен риск за здравето. Надвишаване на тази стойност не създава допълнителна полза за организма. Горната граница на нерисков прием на йод се определя чрез проследяване на настъпилите промени в серумния TSH при продължителен прием на високи дози йодид. Установено е, че при петгодишен непрекъснат внос йод в доза 1800 µg/ден не са наблюдавани отрицателни прояви от страна на щитовидната жлеза. След прилагане на фактор за безопасност три е възприета горната граница на нерисков прием при възрастни индивиди, както и при бременни и лактиращи жени да бъде 600 µg/ден, а при деца след екстраполация на база телесна повърхност (телесна маса^{0.75}) – съответно в интервала 200 – 500 µg/ден (EFSA, 2006: 147–148). (табл. 3)

Таблица 2. Горна граница на нерисков прием на йод според възрастта и физиологичното състояние

Възраст (год)	Горна граница на нерисков прием за йод µg/ден
1–3	200
4–6	250
7–10	300
11–14	450
15–17	500
>18	600
Бременни и лактиращи жени	600

Източник: European Food Safety Authority. Tolerable Upper Safe Level for Vitamins and Minerals 2006: 135–151

Лица с автоимунни заболявания могат да реагират негативно и при по-ниски дози.⁹² Максималната дневна доза на прием която не предизвиква токсични ефекти при възрастни индивиди е 1100 µg/d, като сборна доза от всички източници, но трябва да се има предвид, че за територии с дълготраен йоден дефицит дневният прием не трябва да надхвърля 500 µg/дневно поради риск от йод индуциран хипертиреозидизъм (US Food and Nutrition Board 2001: 1–27; AFSSA, 2001:15).

На табл. 3 са представени последните европейски препоръки за адекватен прием на йод в зависимост от възрастта и физиологичното състояние. Те са разработени на база експертен анализ на доказателства основани на научни факти и са формулирани като препоръки за „адекватен прием“. Всяка държава при разработване на националните си препоръки трябва да се съобрази с конкретните условия – наличие на йоден дефицит, източници на йод в модела на хранене както и от степента на използване на йодирана сол и съдържащи йод суплементи.

Таблица 3. Препоръки за адекватен прием на йод в зависимост от възрастта и физиологичното състояние

Възраст	Адекватен прием на йод (µg/ден)
7–11 месеца	70
1 –3 години	90
4–6 години	90
7–10 години	90
11–14 години	120
15–17 години	130
> 18 години	150
бременност	200
лактация	200

EFSA, 2014

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение може да се каже, че по отношение на потребностите от йод все още няма достатъчно данни за да се определи препоръчителен прием поради което на този етап се прилага понятието „адекватен прием“. Критерий за определяне на адекватен прием е концентрация на йод в урина на деца в училищна възраст с нормална тироидна функция, доказана при епидемиологични изследвания при които е установена най-ниска честота на гушавост под 5 %. При възрастни чрез екстраполиране от данните получени от изследвания при деца е определен адекватния прием който съответства на екскреция на йод с урината $\geq 100 \mu\text{g/L}$, стойност при която е установена най-ниска гушавост

при деца. При малки деца деца екстраполацията е изчислена на база възрастово-специфичния обем на урината. При бременни жени е приложен факториалния подход като се приема, че йодният статус на жената преди забременяване е напълно адекватен и за оценка на адекватността на йодния прием се приемат по-високи интервали на йодурия в сравнение с небременни жени. Европейските препоръки за прием на йод от бременни и лактиращи жени са по-ниски от тези на СЗО тъй като се приема, че европейските жени са с траен адекватен йоден прием. Тъй като лактацията е транзиторно състояние се счита, че няма достатъчно основания да се препоръча по-висок прием от този при бременните.

Необходими са по-нататъчни изследвания не само за определяне по-прецизно хранителните потребности от йод, но също така да бъдат определени достатъчно чувствителни индикатори за оценка на статуса и функционалното състояние в норма и патология.

ЛИТЕРАТУРА

- AFSSA. Report from the AFSSA Expert Committee on Human Nutrition. Vitamin and Mineral fortification of commonly eaten foods: meeting the nutritional and safety needs of the consumer. 2001, 239. Annex 4b, 15.
- Alexander, E.K., E. Marqusee, J. Lawrence, P. Jarolim et al. Timing and magnitude of increases in levothyroxine requirements during pregnancy in women with hypothyroidism. *New England Journal of Medicine*, 2004, 351, 241–249.
- Andersson, M., V. Karumbunathan, M. Zimmermann. Global iodine status in 2011 and trends over the past decade. *Journal of Nutrition*, 2012, 142, 744–750.
- Azizi, F., P. Smyth. Breastfeeding and maternal and infant iodine nutrition. *Clinical Endocrinology*, 2009, 70, 803–809.
- Bath, S.C., K.B. Jolly, M.P. Rayman. Iodine supplements during and after pregnancy. *JAMA*, 2013, 309, 1345.
- Bottazzo, G.F. Thyroid growth-blocking antibodies in autoimmune (AI) atrophic thyroiditis. *Annales d'Endocrinologie*, 1981, 42, 13A.
- Bougma, K., F. E. Aboud, K.B. Harding, G.S. Marquis. Iodine and mental development of children 5 years old and under: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 2013, 5, 1384–1416.
- Delange F. Iodine nutrition and congenital hypothyroidism. In: Delange F, Fisher DA, Glinioer D, eds. *Research in congenital hypothyroidism*. New York, NY, Plenum Press, 1989:173–185.
- Delange, F. et al. In: Iodine deficiency in Europe. A continuing concern. Plenum Press, New York, USA, 1993, 492.
- Delange, F. The disorders induced by iodine deficiency. *Thyroid*, 1994, 4, 107–128.
- Delange, F., G. Benker, P. Caron, O. Eber et al. Thyroid volume and urinary iodine in European schoolchildren: standardization of values for assessment of iodine deficiency. *European Journal of Endocrinology*, 1997, 136, 180–187

- Delange, F. et al. In: Iodine deficiency in Europe. A continuing concern. Plenum Press, New York, USA, 2003, 492.
- Dietary Reference Intakes (DRI) for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. NAS, IOM. Food and Nutrition Board. The National Academic Press. 2001, Chapter 8. 1–33.
- Dwyer, J, Dietary Standards and Guidelines: Similarities and Differences among Countries. In: Present Knowledge in Nutrition, 10th edition. ILSI, Wiley- Blackwell: 2012, 1111–1134
- EFSA.SCF. Tolerable Upper Intake Levels for Vitamins and Minerals. 2006, 135–151.
- EU Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on The Tolerable Upper Intake Level of Iodine, 2002, 18–19.
- Expert Group on Vitamins and Minerals. *Safe Upper Limits for Vitamins and Minerals*. Food Standards Agency, London, 2003, 208–213.
- EFSA Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Iodine. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. *EFSA Journal*, 2014, 12(5), 3660.
- Gunnarsdottir, I, L. Dahl . Iodine intake in human nutrition: a systematic literature review. *Food & Nutrition Research*. 2012, 56, 19731.
- Laurberg P., S. Andersen , R. Bjarnadottir, et al. Evaluating iodine deficiency in pregnant women and young infants-complex physiology with a risk of misinterpretation. *Public Health Nutrition*, 2007, 10, 1547–1552.
- Malvaux, P.,C. Beckers,M. De Visscher. Iodine balance studies in nongoitrous children and in adolescents on low iodine intake. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1969. 29, 79–84.
- Pedersen, IB., et al. An increased incidence of overt hypothyroidism after iodine fortification of salt in Denmark: a prospective population study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, **92**,(8): 3122–3127.
- US Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. A Report of the Institute of Medicine, National Academy Press, Washington, DC. 2001, 8–1 to 8–27
- Younger, K.M. Dietary Reference Standards. In: Human Nutrition M. Gibney ed, Wiley –Blackwell, 2009, 122–131.
- Wayne, E.J., D.A. Koutras, W.D. Alexander. In: Clinical aspects of iodine metabolism. Blackwell, Oxford, UK, 1964, 303–331.
- World Health Organization, United Nations Children's Fund, and International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination. A guide for programme managers. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2007, 32–33.
- WHO. Joint Statement by the World Health Organization and the United Nations Children's Fund. Reaching Optimal Iodine Nutrition in Pregnant and Lactating Women and Young Children. 2007, 2.
- WHO/FAO (World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations), Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2004.
- WHO Secretariat. Andersson, M et al. Prevention and control of iodine deficiency in pregnant and lactating women and in children less than 2-years-old: conclusions and recommendations of the Technical Consultation. *Public Health Nutrition*, 2007, 10(12A), 1606–1611.

- WHO. Iodine and Health Eliminating iodine deficiency disorders safely through salt iodization, 1994.
- Zimmermann, M.B., The impact of iodised salt or iodine supplements on iodine status during pregnancy, lactation and infancy. *Public Health Nutrition*, 200710, 1584–1595.
- Zimmermann, M.B., The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 2012, 26 Suppl 1, 108–117.
- Zimmermann, M.B. Iodine and Iodine Deficiency Disorders. In: ILSI, Present Knowledge In Nutrition, J. Erdman and al. editors, 2012, Wiley Blackwell, 554–567

Дата на постъпване: 11.07.2016 г.

КОНЦЕПТУАЛНА ВИЗИЯ ЗА КАЧЕСТВО И ЕФЕКТИВНОСТ НА ОБУЧЕНИЕТО НА МЕДИЦИНСКИ СЕСТРИ

ЧАВДАР КАТАНСКИ¹*

¹ Титуляр на задължителни и избираеми академични курсове
в Медицински Факултет, СУ „Св.Климент Охридски“.

Чавдар Катански. КОНЦЕПТУАЛНА ВИЗИЯ ЗА КАЧЕСТВО И ЕФЕКТИВНОСТ
НА ОБУЧЕНИЕТО НА МЕДИЦИНСКИ СЕСТРИ

Статията представя резултати от изследване върху проблема за качеството и ефективността на медицинското академично обучение. Представената от автора оригинална концепция включва: дефиниране на качеството и ефективността на обучението, изясняване на тяхната връзка и на общите индикатори, необходимостта от вътрешна институционална система за контрол и управление на качеството с акцент върху ролята на преподавателя и неговата споделена със студентите отговорност за качествено и ефективно обучение. На тази методологична основа във водените от автора курсове за подготовка на медицински сестри започна експериментално оценяване по един от основните общи индикатори – нивото на удовлетвореност на студентите.

Chavdar Katansky. CONCEPTUAL VISION FOR QUALITY AND EFFECTIVE-NESS
OF THE NURSES TRAINING

The article presents main results of a research, which has made over the problem for academic training quality and effectiveness. The submitted by he author original conception includes: training quality and effectiveness definitions, their interconnections and common indicators, the needed institutional system for management of training quality with accent on the

* *За контакти:* Д-р Чавдар Катански, редовен доцент по управление на образованието, Департамент за информация и усъвършенстване на учители, СУ „Св. Климент Охридски“, бул. „Цар Борис“ № 224, София 1619, България, email: chavdar_katansky@abv.bg

academic lecturer roll and his shared with the students responsibility for quality and effectiveness. On this methodological base was started experimental evaluation of students satisfaction with the training in conducted by the author academic nurses courses.

Keywords: quality of training, effectiveness of training, common indicators for quality and effectiveness, satisfaction with the training.

ВЪВЕДЕНИЕ

Поддържането на качествено и ефективно ниво на академичното обучение е един от основните проблеми в системата на висшето медицинско образование. От досегашния опит вече стана ясно, че за да се постигне качество и ефективност са необходими ясни правила, стандарти и държавни регулации и гаранции. В България регулациите се осъществяват от Националната агенция за оценяване и акредитация във висшето образование (НАОА). Посредством комплекс от форми, методи и средства тя извършва *външно оценяване* на качеството на провежданото в съответните висши учебни заведения обучение. В рамките на своите правомощия акредитира институциите, както и техните учебни програми, оценява „от вън“ техните възможности да провеждат качествено обучение. Също така, на НАОА е вменено да упражнява и следакредитационно наблюдение за *външен контрол* на качеството.

Решаването на проблема обаче е и в компетенциите на мениджмънта на самите университети и факултети. Ето защо в тези образователни институции следва да се създават специални структури, които да извършват ефикасен *вътрешен контрол*. Тяхното предназначение е да наблюдават „от вътре“ спазването на заложените критерии и показатели (стандарти) за качество на лекционните курсове, семинарни занятия, упражнения, практики и т.н. Целта е да се забелязват своевременно допускани отклонения от стандартите, да се установяват и анализират причините като се организира тяхното отстраняване. Следователно става въпрос за дейности с превантивен характер, спомогащи за поддържане на постигнатото ниво на качество (и ефективност) в съответната институция и за предотвратяване на възникването на проблеми, които могат да доведат до отнемане на акредитациите.

Съответно, инструментариумът на външното оценяване и на вътрешния контрол са както относително самостоятелни, така и обвързани. Те взаимно се предполагат и допълват в общия процес на *управление на качеството и ефективността на обучението*.

СЪЩНОСТ НА КАЧЕСТВОТО И ЕФЕКТИВНОСТТА

Известни са два основни стандарта за качество, които се прилагат все по-масово във всички сфери на социалната практика, вкл. в образованието и обучението, като следва:

- а) *ISO 9001: 2000* на Световната организация по стандартизация (*International standards organization*), който е предназначен за управление на качеството на продукти и услуги и е приложим също в организациите, предоставящи обучение и професионални квалификации. В конкретния случай, под *качество* се разбира „съвкупността от свойства и характеристики на даден продукт (стока или услуга), съответстващи на установени стандарти и определящи тяхната способност да задоволят както осъзнатите (явни), така и скритите потребности на клиентите“. (Prokopenko 1987)
- б) *TQM (Total Quality Management)* на Европейската фондация за управление на качеството (*European foundation for quality management*). Особеност на европейския стандарт е че той покрива не само (и не толкова) крайния продукт, а цялостния процес по неговото създаване. Този стандарт изхожда от японското концептуално виждане, че качеството не е просто резултат, то е процес (Morita 1992). Предимствата от такъв подход към качеството са очевидни – решаването на проблема се търси не на края, а още в началото на процеса. Чрез осигуряване на необходимите условия и предпоставки и чрез качествени и отговорни действия се гарантира и постигането на заложените параметри за качество на съответния продукт или услуга. Те са в състояние да задоволят успешно потребностите на потребителите, т.е. налице е качество, а организацията функционира в пълно съответствие с целите и мисията си, с очакванията от нея ефективност. Това разбиране съответства напълно и на виждането на автора за качеството и ефективността като явления, които са свързани цялостно със съответната система на обучение – респективно обхващат цели, резултати, процес, организация и иновация. (Виж подробно Катански 2007, Катански 2008, Катански 2009 и Катански 2009а) Последното положение – иновацията е заложена и в класическата схема на всяка система за управление на качеството (*Quality Management System*), а именно – дефиниране на ясен стандарт, измерване на качеството спрямо този стандарт, използван като критерий, подобряване, т.е. иновиране на процеса и на резултата. Иновационната дейност е императив, тя от своя страна предизвиква след време промяна и в стандарта, развитие на самата система за управление на качеството.

Качеството е създадената и удостоверена способност на съответната обучаваща организация да задоволява потребностите в съответствие с действащите стандарти и да отговаря на очакванията на своите потребители. В сферата на образованието качеството е степен на съответствие на обучението като цяло, на неговите резултати и на отделните му компоненти (учебна програма, учебно-технически средства и пособия и др.) спрямо действащите стандарти.

Следователно, в сферата на медицинското образование и в конкретния случай в академични курсове на специалността „Медицинска сестра“, качеството е характеристика на обучението, което отразява неговата способност да задоволи явни и скрити потребности на обучаваните, в съответствие с държавните образователни изисквания (стандартите). Качествен е резултат от обучението, който съответства на тези стандарти и удовлетворява клиентите за съответната платена от тях цена, за отделеното време, положените усилия за учене и др. Така използваните за обучението ресурси се осмислят не просто като разходи, а като вложения в подготвяните медицински кадри, т.е. като създаване на човешки капитал във важния сектор на здравеопазването и общественото здраве. (Катански 2014б) На пръв поглед изглежда че качеството е явление, което обхваща всички основни и наистина значими количествени и стойностни аспекти на обучението като дейности, които са свързани с поставените цели, постигнатите резултати, както и вложените ресурси. В действителност обаче, обективно съществуват и други аспекти, които имат дори по-важно екзистенциално значение за всяко обучение. Те са свързани с категорията „ефективност“.

Ефективността на обучението има две основни същностни характеристики:

- а) чрез нея се измерва отношението между целта (планирания резултат) и реално постигнатия резултат, т.е. тя показва определена степен, в която са постигнати целите на обучението – това е т.нар. *вътрешна (педагогическа) ефективност на обучението*;
- б) същевременно ефективността е и отношението между стойностите на резултатите и на вложените за тяхното постигане ресурси: финансови средства, различни материали, време и усилия (жив труд) – това е т.нар. *външна (икономическа) ефективност на обучението*.

С оглед предимно социалния характер на обучението в случая ще се има предвид педагогическата същностна характеристика на ефективността. Измерването на педагогическата ефективност е комплексен процес на съпоставяне (в края на обучението) на нивото на целите с нивото на постигнатите резултати – като вътрешна ефективност на обучението. Необходима е безспорно и икономическа преценка на ефективността по отношение на стойността на резултатите, средната цена и ползите, както и възвращаемостта на вложените за постигането им ресурси.

На практика качеството и ефективността са свързани и взаимно се предполагат. Ефективната обучаваща организация постига качествено обучение, а качеството на обучението включва в себе си и индикации за ефективност. Така че от педагогически позиции, качеството и ефективността на обучението на медицинските сестри са тясно обвързани и имат общи индикатори.

ИНДИКАТОРИ НА КАЧЕСТВЕНОТО И ЕФЕКТИВНО ОБУЧЕНИЕ

Управлението на качеството и ефективността на академичното обучение на медицински сестри е свързано с използването на структура от индикатори. Тази структура позволява да се развие практически инструментариум за външно и вътрешно управление и регулиране на качеството и ефективността. Тя обхваща четири основни групи, както следва:

Група: **Индикации на резултатите от обучението**

Резултатите, отразяват обективните изменения в подготовката, мотивацията и поведението на студентите като последица от проведеното обучение. Под резултати се разбират не само знанията и уменията, които са усвоили обучаваните в процеса на обучението т.е. подготовката, но и постигането на нужното психо-соматично състояние, мотивация и готовност за успешно учене, за професионална реализация и усъвършенстване.

1.1. Задоволяване на идентифицираните потребности обучение. Това е най-важният индикатор от тази група. Установяването на степента на задоволяване потребностите от обучението се осъществява диференцирано, посредством механизмите за дидактически контрол, както следва:

- а) Задоволяването на общите потребности, които са отразени в целите на обучението се установява посредством сравняване на резултатите от изпитите със съответните професионални стандарти като се преценява постигнатата степен на съответствие между тях.
- б) Задоволяването на индивидуалните потребности се установява посредством провеждането на анкети, наблюдения, интервюта и др.

1.2. Усвояване на трайни и оперативни знания и умения от студентите. Този показател обхваща принципното изискване за устойчив характер на знанията и уменията, осигуряващ възможността и за тяхното практическо използване – т.е. за оперативност. Наличието на трайна и оперативна подготовка е безспорна индикация за високо качество на преподаването, ученето и цялостно на провежданото обучение на медицинските сестри. Преценявано по този показател академичното обучение е качествено и ефективно тогава, когато резултатите от текущия контрол показват, че усвояваните от студентите знания са стабилни и на тяхна основа се развиват необходимите умения. Същевременно е необходимо резултатите от проведен заключителен изпит да допълнят и подкрепят текущата оценъчна информация като покажат пълно владение на преподаваното учебно съдържание и изградена структура на необходимата компетентност.

1.3. Удовлетвореност и мотивация на студентите. Формирането и развитието на мотивация у обучаваните е важна функция на всяко обучение. Тя съответства на принципното изискване за оказване на възпитателно въздействие върху студентите в следните три отношения:

- а) За преодоляване на трудностите, за поддържане на темпа на учене и за цялостен напредък в обучението.
- б) За последващо прилагане на наученото по време на обучението в реални условия практически условия, за успешна професионална, социална и личностна реализация.
- в) За прерастване на обучението в самообучение, както и за продължаване на ученето и след завършване на съответното организирано обучение.

Ето защо състоянието на удовлетвореност и мотивация на обучаваните е сама по себе си важен индикатор за преценка на качеството и ефективността на провежданото обучение.

1.4. Здравословно (психо-соматично) състояние на студентите. Този показател отразява важни аспекти на човешкото измерение в обучението, където е в сила основният императив на медицината „Не вреди!“, т.е. не увреждай с обучението физическото и психично здраве. Това изискване е особено важно за академичното обучение тъй като човекът е носител на формираната с обучението професионална компетентност е същевременно и нейн реализатор в практиката. Ето защо, съвсем не е без значение как ще се чувства той след приключване на обучението и какво ще бъде неговото психично и физиологично състояние, удовлетвореност и нагласа за професионална реализация и развитие.

Безспорно е, че обучението следва да допринася съществено за бъдещото професионално, социално и личностно развитие на обучаваните. Същевременно този показател има и друг важен аспект – определени психо-соматични и личностни качества имат пряко значение за успешната реализация и развитие в професия „Медицинска сестра“.

1.5. Съответствие на дейността на обучените със стандартите и изискванията в професията. Последният (но не и по значимост) индикатор в тази група указва че за оценката на качеството и ефективността е от значение след проведеното обучение обучените лица да са в състояние да покрият изискванията на професионалните стандарти – за количество и качество. Показателят е свързан с принципа за практическата насоченост на академичното обучение. Използването на този индикатор осигурява своеобразен мост между постигнатото в обучението и създаването на качествени работни места, на цялостни условия за качествена и ефективна трудова дейност.

II група: Индикации на система на обучението

Под система в случая се разбира комплексна структура от цели, учебно съдържание, форми, методи и средства за обучение, както и обратна връзка, която се използва от академичния преподавател за създаване на подкрепяща ученето среда и за ефикасно дидактическо взаимодействие с обучаваните. Основните индикации в тази група са:

2.1. Прозрачност на целите и достъпност на учебното съдържание. Овладяване на професията от бъдещите медицински сестри следва да развива тяхната работна сила в точно съответствие с динамично формиращи се потребности и с конкретни изисквания, които се отразяват в целите на обучението. Ето защо е нужно неговите цели и съдържание да бъдат прозрачни, т.е. да са напълно понятни и разбираеми за студентите. Когато са прозрачни, целите дават ясна насока за действие, очертават по разбираем начин нивото на постижение, което се очаква да бъде реализирано в точно съответствие с конкретни стандарти и изисквания на професията, която е предмет на обучението. В същата насока е и изискването за достъпност на учебното съдържание, което за да бъде полезно, следва да е съобразено на първо място с образователното и професионално-квалификационното ниво на обучаваните, второ – да бъде пряко свързано с условията и потребностите на професионалната дейност, респективно на длъжностите и работните места и на трето място – да съответства напълно на поставените цели и да осигурява реална възможност за тяхното успешно постигане.

2.2. Гъвкавост на формите за организиране на учебна среда и на дидактическо взаимодействие. Гъвкавостта е съвременно изискване, произтичащо от принципното положение, че всяко обучение следва да се приспособява максимално към реалните възможности на студентите за аудиторна и извънаудиторна учебна дейност.

Показателно за качеството на обучението е използването на такива форми, които създават благоприятни условия (подкрепяща среда) за неговото протичане. Втори основен аспект на качеството и ефективността по този индикатор е осигуряването на необходимите връзки за комуникация и взаимодействие между участниците в обучението. Основна е връзката обучаващ – обучаван, но своята значимост за качеството и ефективността имат също успешната комуникация (взаимодействие) между самите обучавани. Добре организираната учебна среда, комуникация и взаимодействие са ясна индикация за благоприятна ситуация в обучението и за наличие на възможности за качество и ефективност.

2.3. Интерактивност на методите за преподаване, управление и логистика на ученето. Методите представляват примерни структури за провеждане на

диалектически обвързаните дейности на преподаването и ученето в определена последователност, насочена към постигане на целите на обучението. Съвременното виждане за методите, които се използват при обучението е свързано с изискванията за осигуряване на синергия на участниците и интерактивен характер на обучението. Интерактивният характер се изразява във възможността, посредством сполучлив избор и творческо прилагане на всеки метод, да се постигне активно, целенасочено и ползотворно взаимодействие между обучаващите и обучаваните. Това изискване се отнася най-вече за методите за теоритично обучение, където преподаването следва да се изразява в логистика, в организиращи и активизиращи ученето дейности като: умело поставяне на проблеми, подпомагане на обучаваните при тяхното анализиране, решаване на казуси като се използват техните знания и умения в съответната област.

2.4. Релевантност на дидактическите средства, използвани за подпомагане на преподаването и ученето. В тясна връзка с методите на обучение следва да се преценява и използването на съвременни средства за обучение – видео, мултимедиа, компютри и др. В съвременната практика тяхната значимост нараства чувствително в следствие както на обективните изисквания за адаптиране на обучението към възможностите на студентите, така и на осъществяваният понастоящем преход от използване на системи за обучение с два активни компонента (обучаващ – обучаван) към системи с три активни компонента (обучаван, обучаващ и компютъризиран обучаващ комплекс). Обучаващият комплекс обединява възможностите на компютрите, видеото и разнообразните други технически средства за провеждане на обучение с интерактивен характер. Едни и същи дидактически средства имат различна релевантност в обучението, зависеща от степента на тяхното съответствие на: *поставените цели, нивото на обучаваните, подготовката на преподавателите, характера на учебното занятие и други условия.* Дидактическите средства следва да се използват комплексно и целево, като се постига обвързаност, взаимно допълване, максимална функция и не на последно по значимост място – икономичност.

2.5. Действеноост на обратната връзка за контрол и оценка на постигнатото. Действеноостта на обратната връзка (като индикация за качеството и ефективността на обучението) следва да се преценява на основата на две специфични изисквания към механизма с който се осъществяват контролът и оценяването, както следва:

- а) Необходимост от системно организиран текущ контрол на постиженията на обучаваните като се развиват паралелно външна и вътрешна обратна връзка. Първата обслужва преподавателя за регулиране процесите на учене и преподаване, а втората служи непосредствено на обучаваните студенти за самоконтрол и саморегулиране на учебната работа.

- б) Крайната оценка на постижениата следва да се организира в директна форма на основата на обективни критерии, които да бъдат ясни и разбираеми за студентите. Препоръчително е използването на стандартизирани тестове, които да се разработват в съответствие със стандарти за оценяване.

III група: Индикации на процеса на обучението

Състоянието на процеса на обучението е важен индикатор за качеството и ефективността. За него може да се направи преценка с помощта на пет основни характеристики, както следва:

3.1. Адаптивно преподаване. Преподаването е адаптивно, когато успява без излишно напрежение да се приспособи към условията, изискванията и потребностите на обучението в две основни отношения, както следва:

- а) *По отношение на предмета на обучението* – изразява се в използване от академичния преподавател на разнообразни и съответстващи на характера на професионалните знания, умения, отношения и компетентност форми, методи и средства, осмислена от аспекта на обучението и на преподаването.
- б) *По отношение на обучаваните* адаптивността на преподаването се изразява в пълното приспособяване използваната от преподавателите организация, методика и учебно съдържание към тяхното културно и образователно ниво, пол, възраст и т.н., вкл. и с отчитане на индивидуалните особености.

3.2. Ритмичен темп на учебната работа. Ритмичността е важен индикатор тъй като е свързана с времето и неговото разпределение в учебната програма. За изпълнението на учебната програма може да се съди, както по постигнатите резултати (дали и до колко отговарят на поставените цели на обучението), така и по спазването на определената темпорална структура на обучението (липсата на изоставане в усвояването на учебния материал, в провеждането на учебните занятия и други). В този смисъл ритмичността на учебната работа е показателна за това, че учебната документация отразява действителните потребности от обучение, както и че е съобразена с конкретните условия на обучението и с възможностите на обучаваните. Наличието на ритмичност свидетелства и за достъпността на учебното съдържание, за качеството на прилаганата методика на обучението, за ефикасността на създадената организация и т.н. Следователно, ритмичността е относително обособена индикация, тя е тясно свързана и с другите индикатори на качество и ефективност.

3.3. Успешност на ученето. Ученето е успешно тогава, когато всички обучавани успяват да усвоят и овладеят учебното съдържание степен, отговаряща на установените стандарти, поставените цели и задачи, собствените възможности, отделеното време, положените старание и усилия. Изключително важно е това да бъде устойчива и усилваща се тенденция, която се проявява на всеки етап от учебния процес. Успешното учене доказва, че се оползотворяват създадените с адаптивно преподаване условия и предпоставки обучението като цяло да бъде качествено и ефективно. На практика трудно може да се определи границата между преподаване и учене, защото двата процеса са диалектично обвързани. Същевременно, активното и съзнателно учене с творчески характер не е просто усвояване и механично запомняне, а преди всичко ясно виждане на поставените проблеми и задачи, тяхното анализиране и определяне на съществените характеристики, необходими за успешното им разрешаване. Успешността на ученето в крайна сметка се доказва найясно с резултатите в професионалната дейност на обучените медицински сестри.

3.4. Синергия на преподаването и ученето. Обединяването на енергията на преподаването и на ученето и постигането на т. нар. синергетичен ефект е важна индикация за качеството и ефективността на обучението. Това е признак на постигната симетрия и хармония във взаимодействието на академичния преподавател и обучаваните от него студенти, за взаимно доверие и успешност на тяхната съвместна работа и дидактическо общуване. Ето защо този аспект на качеството и ефективността също следва да се индикира в процеса на академичното обучение на медицински сестри.

3.5. Постепенно прерастване на обучение в самообучение. Прерастването на обучението в самообучение е сигурен признак за качество и ефективност. Този индикатор отразява съвременното изискване обучението не само да формира успешно съответната професионална подготвеност, мотивация и компетентност, но и да развива способността на обучаваните за самостоятелно придобиване на нови знания, умения и компетентност, т.е. да ги насочи по пътя на активното и съзнателно провеждано саморегулиращо се учене. Това е особено важно изискване за съвременната практика на динамични промени, изискващи ученето на хората да продължава през целия живот. Ето защо, в хода на организирания академичен учебен процес трябва да се формират нагласи, умения и готовност у всеки студент за по-нататъшно усъвършенстване по пътя на продължаващото професионално обучение и самообучение. Практически това принципно положение се реализира чрез поставяне на задачи за самоподготовка на студентите преди, по време и след организираните учебни занятия, отделяне на време за разясняване на обучаваните, как да се справят самостоятелно с поставените им задачи, непосредствено консултиране и подпомагане на самообучението и т.н.

IV група: Индикации за иновация на обучението

Само иновиращото се обучение е в състояние да поддържа и повишава постигнатото ниво на качество и ефективност, както и да бъде все поатрактивно, по-рентабилно и осигуряващо възвращаемост на вложените в него инвестиции, т.е. ефективност. Основни индикации в тази група са:

4.1. *Усъвършенстване на системата на обучението.* За постигането и поддържането на високо качество и ефективност на обучението е от изключително значение разкриването и оползотворяването на съществуващите възможности за подобряване на неговата система като цяло и на основните и компоненти. Насоките за иновация са: целите и съдържанието на обучението, заложен в учебната документация, използваните учебници и помагала, организацията и методиката, учебната база и дидактическите средства, обратната връзка – респективно контрола и оценяването. Този широк спектър на обновлението позволява системата да се самоактуализира и да бъде в постоянно съответствие с динамиката на потребностите и изискванията на социалната практика. Качеството и ефективността могат да се оценяват по този показател посредством наблюдение, анкетни проучвания и анализи. Нормално е резултатите да покажат, че в процеса на функционирането си системата на обучението като организация, методика и т.н. се подобрява. Условие за иновацията е академичния преподавател да е мотивиран да търси, разкрива и реализира неизползваните до този момент от него възможности за усъвършенстване на използваната от него система.

4.2. *Интензификация на процеса на обучението.* Интензивността на процеса на обучението е свързана и зависи пряко от подобряването на преподавателската работа, от все по-ритмичното и успешно учене, от сближаването и хармонизацията на преподаването и ученето за постигане на синергетичен ефект, както и от прерастването на обучението в самонасочващо се и саморегулиращо се учене. Нейният смисъл се изразява в икономията на учебно време, което е предпоставка за реализиране и на други видове икономии – на финансови средства, материали и т.н. Преценяването на качеството и ефективността в този аспект следва да се осъществява в две насоки:

- а) *Реализиране на икономии на учебно време* за един курс, семинар и друга форма на учебна работа. Тук същественото не е само да се намали времетраенето на обучението, а да се избегне загубата на учебно време и да се уплътнява максимално времето с дейности, които спомагат за постигане на резултати и компетентност, отговаряща на стандартите.
- б) *Намаляване на загубите на учебно време като устойчива тенденция.* При качественото и ефективното провеждане на съответните курсове, семинари и други форми на академичното обучение е логично да

се очертава устойчива тенденция на все по-рационално използване на учебното време и примерно, след провеждането на цикъл от курсове, да се достигне до обосновано усъвършенстване на показателите за времетраенето и разпределението на времето.

4.3. Удовлетвореност и мотивираност на преподавателя. Няма по-важен вътрешно-организационен фактор за постигане на качество и ефективност в обучението от капацитета на академичния преподавател – респективно от неговото образователно, професионално и общокултурно ниво и цялостен потенциал за преподаване. За да действа обаче този фактор е необходима и мотивация. Ето защо нивото на мотивираност на академичния преподавател и основна индикация за това, че неговият капацитет, вкл. за творчество в обучението ще се реализира. Творчеството е израз на висша степен на компетентност на обучаващите и основа за усъвършенстване (иновирание) на системата и процеса на обучението. Обучаващите обаче са реални хора и за да постигнат творческо ниво на работата си, следва да са удовлетворени от своята работа и мотивирани и за развитие и пълноценна реализация.

4.4. Здравословно (психо-соматично) състояние на преподавателя. Съществен признак за качеството и ефективността на академичното обучение е общото здравословно състояние на преподавателя. Докато обучаващите студенти влизат в системата с определено равнище на подготвеност, което повишават, допълват или променят в процеса на обучението и след това излизат от системата, преподавателят остава и приема новите контингенти студенти. На него се разчита да иновират обучението и да създава още по-добри условия за следващите обучаващи. Ето защо, съвсем не е без значение отражението на приключилото обучение върху неговото физическо и психично здраве, мотивация и цялостна нагласа. По този показател, наличието на качество и ефективност се характеризира с добро здраве на университетския преподавател, с високо ниво на удовлетвореност от своята работа, със самочувствие и ясно съзнание за нейната обществена значимост, както и от условията в които работи и стимулите, които получава.

4.5. Устойчиво ниво на преподавателската дейност. Като всяка професионална дейност и преподаването е свързано със стандарти, очертаващи своеобразна рамка за изпълнение на съответните функции и задачи (компетенции). Качеството и ефективността на обучението са пряко свързани с постигането на съответствие на преподавателската работа с установените стандарти и произтичащите от тях норми, правила и изисквания. От аспекта на иновацията обаче е важно не само рутинното (стандартно) изпълнение, а чрез творческата работа на преподавателите да се експериментира и да се внедряват новостите в обучението и да се постигат все по-високи нива на професионализъм.

Представената системна структура позволява подбор и селектиране на най-подходящите и съответстващи на конкретните условия индикатори чрез които да се определят, контролират и управляват качеството и ефективността на академичното обучение, както на бъдещите медицински сестри, така и на други медицински кадри. Успешното решаване на този въпрос изисква да се организират специални структури в медицинските университети и факултети, които да приложат конкретни добре обосновани спрямо конкретните условия и изисквания механизми за контрол на качеството и ефективността. Това ще изисква влагането на значителни ресурси и продължителен период от време за изследвания, развойна и експериментална дейност. Така че решението в тази насока е перспектива на институционалното развитие на медицинските университети и факултети. Междувременно обаче съществува и една по-ограничена, но също така добра възможност за действие в тази насока, която е свързана с част от концептуалната визия за качеството и ефективността на академичното обучение, която се отнася до споделената отговорност.

СПОДЕЛЕНАТА ОТГОВОРНОСТ ЗА КАЧЕСТВО И ЕФЕКТИВНОСТ

При стандартните услуги, експерти и специалисти на изпълнителя по договора създават (самостоятелно или екипно) определен резултат – проектиране, построяване, ремонтване и т.н. и съответно гарантират (поемат отговорността) за неговото качество и за спазването на установените стандарти и изисквания. Обучението обаче е по-особен вид услуга. Нейното предоставяне от учебното заведение чрез упълномощен(и) преподавател(и), в съответна учебна база, организация и методика, логистика и др. не означава че на клиентите се гарантира постигане на заложените цели и параметри на резултатите от услугата, без значение как те учат, т.е. как участват (аудиторно и извънаудиторно) в обучението и как партнират със своята учебна дейност на преподаването. И най-добрите преподаватели не могат да учат вместо обучаваните и да постигнат самостоятелно изисквания от стандартите резултат от обучението. (Катански, Атанасова, Терзииванов 2015: 95) Усилията на преподаването няма да са достатъчно ефективни, ако не намерят партньорство с обучаваните и не се постигне синергия с тяхното учене. Така че предоставянето на образователната услуга не води автоматично до желанния резултат на обучението. Услугата е преподавателска логистика, която следва да подпомага ученето, преподавателят и обучаваните съвместно ще постигнат резултата, така както е заложен и описан в учебната програма. Същевременно, резултатът от обучението – образование, квалификация, възпитаност, ниво на умения, компетентност и т.н. има своя човешки носител – обучените студенти. Чрез тях той се пренася в дадена(и) сфера(и)

на социалната практика и се реализира, материализира, мултиплицира. Този процес също следва да бъде част от оценяване на качеството на обучението и образованието.

Това положение е напълно валидно и за висшите медицински учебни заведения – университетети, факултети и др. Нещо повече, академичният характер на провежданият в тях образователен процес изисква различно отношение към студентите в сравнение с отношението към учениците в училищата – като към еманципирани млади хора, които са поели отговорност за своето образование, искат да се учат и да постигнат компетентност в избраната специалност. Естествено това следва да се демонстрира експлицитно от студентите и да се дават ясни доказателства че ученето е вплетено в тяхната ежедневие и е начин живот, че е смисъл на техния живот – отговорност, ангажираност и активност. В тези условия усилията на преподаватели и студенти следва да се насочат към постигане на хармония, на синхрон в действията и на синергия на учене и преподаване. Не случайно в съвременната педагогическа литература ученето се извежда преди преподаването тъй като то има основно значение постигане на целта и задачите, на качество и ефективност на обучението. Без да се хиперболизира ученето и съответно да се подценява преподаването ще се посочи че модерното академично обучение има два субекта (преподавател и студент), че преподавателят е водещата фигура при организацията и управлението, а студентът е реализатор на овладяването на учебното съдържание и на придобиване на подготвеност и на компетентност. Никой друг не може вместо него да направи това. Ето защо, успоредно с овладяване на съдържанието на учебните дисциплини в специалността, той следва да развива и своето умение да учи, да подобрява (с помощта на преподавателя) учебната си компетентност.

ЛОГИСТИРАНЕ НА СТУДЕНТИТЕ

Както се подчерта образователната услуга не води автоматично до желанния резултат на обучението, тя е преподавателска логистика за постигане съвместно с обучаваните на резултатите, така както са заложили в целите и задачите, разписани в учебната програма. Те отразяват определени нива на образование, квалификация, възпитаност, на знанията и уменията, мотивацията, цялостната компетентност за действие, за професионална и социална реализация и т.н. (Катански, Атанасова, Терзииванов 2015: 95)

В резултата от обучението следва да се включи и психосоматичното състояние на студентите, тъй като именно те са носител на този резултат и ще го трансферират, прилагат и мултиплицират в тази наистина важна сфера на социалната практика – здравеопазването. Как ще го направят, зависи в значителна степен от тяхното психосоматично състояние и мотивация. Ето защо значението на създаването с обучението на студентите предпоставки за

тяхната последваща качествена и ефективна професионална дейност е изключително важно. Това се отнася и до подготвяните бъдещи медицински сестри.

За тях е полезно, с оглед придобиване на необходимата за ученето системна визия и разбиране, да разполагат с логична и относително цялостна структура на тематиките и на свързаната с тях терминология в съответния академичен курс. Най-добре тази потребност може да задоволи учебник (комбиниран с речник), което отразява съвременните постижения в теорията, методологията и практиката, както и общоутвърдени и консенсусно възприети от водещите специалисти в тази научна област положения, принципи, термини и др. Учебникът (Катански 2014) е ключов елемент в системата и съдържанието на курса и е разработен в съответствие с изискванията на модулното обучение и на социоконструктивизма. Неговото предназначение е да ориентира студентите в проблематиката, съдържанието, терминологията и структурата на курса (учебната дисциплина), както и да ги подпомогне в тяхното усвояване. Всеки студент във водените от автора курсове има конкретна и пълна представа за дисциплината, която изучава, както и за това, което се очаква от него да постигне – не само да възпроизвежда усвоени знания, но и да разбира съдържанието, да дава коректни дефиниции, както и да ги интерпретира в подходящ контекст, да прави връзки на темите и на терминологията, да умее самостоятелно да доразвива, разширява и надгражда своята компетентност, вкл. в практически план като вече практикуващ професията.

Съдържателната структура включва:

- а) Ясна *идентификация* с учебната дисциплина, както и с специалността и профила на компетентност. Още на заглавната страница се представят и прозрачни цели, указващи очакваните от обучаваните резултати и постигането на съответстващи нива на компетентност по проблематиката на академичния курс.
- б) Следващата част е своеобразно въведение, което дава ясни *насоки* на обучаваните за ползване на учебника като електронен пътеводител при учебната работа и за развитие на изискваната цялостна компетентност по проблематиката на курса.
- в) В пособието е очертана и *тематичната структура* (основните тематични) на съдържанието на учебната дисциплина, които следва да се изучат и усвоят от обучаваните, като основа за постигане на компетентността.
- г) В следващата част от съдържанието се представят по-детайлно открити *теми и въпроси* във всяка от основните тематични, с *ключови думи* (основни понятия), които да служат за търсене на литература, както и за овладяване на терминологията на дисциплината.
- д) Както вече се каза, учебникът включва и прецизен *терминологичен справочник*, който обхваща относително пълно използвания в курса категориално-понятиен апарат.

Учебникът, от една страна, задоволява в основни линии потребността на студентите от структурирана визия и терминологична яснота. То ефикасно ги подпомага да се ориентират в проблематиката като идентифицират правилно основни тематики, термини и ключови думи. От друга страна, той им дава възможност успешно да търсят и откриват (в библиотека, интернет и на други места) необходимите им учебни ресурси. Така, постепенно те придобиват нагласа и умения за *самостоятелно активно и целенасочено учене*, за проучване и аотиране на теми в научната област, като и за тяхното интерпретиране, коректно свързване и др. развитието на метаумението за учене постепенно им позволява да разработват „свои“ теми, да откриват „нови“ въпроси, които да проучват и изясняват, т.е. да бъдат все по-успешни обучаващи се. За подпомагане на този процес в съдържанието на курса са включени като самостоятелни електронни обекти, развити и оформени на модулен принцип теми от съдържанието на учебника (с тестове за самоконтрол, контрол и оценка). Това означава, че в процеса на работа обучаваните осъществяват основано на конструктивизма учене, развиват и способността си за критична самооценка на постиженията, за изграждане на компетентност, както в съответната проблематика, така и в учебната работа. Чрез предоставените: *структура, ключови думи и насоки* те търсят и откриват подходящите литературни източници, правят референции (описи на проучените книги, студии, статии, доклади и др.), аотират, създават, „свое“ съдържание по съответните тематики. Така студентите разширяват и допълват съществуващи теми в структурата, дефинират категории и понятия, могат успешно и с нарастваща компетентност да вписват допълнения и да проучват и развиват цялостни теми. Усвояването на познания, овладяването на съответните умения и придобиването на цялостна компетентност изискват продължителен процес на учене. Така, на края на курса студентите вече могат да разработват разнообразни материали (доклади, статии и др.), да генерират идеи за проучвания и курсови проекти, за презентации по съответни въпроси и тематики, както и за бъдещата си дейност по практикуване на професията като медицински сестри. Това означава, че работата на обучаваните с учебника не завършва с приключването на съответния курс. Тя може да продължава през годините на тяхното кариерно развитие в зависимост от условията, потребностите и индивидуалното желание за това. За тази цел в комплекта на пособието е включено и своеобразно *портфолио на ученето*. (Катански 2014а) В зависимост от конкретните интереси и действия на всеки обучаван, от потребностите, както и от други фактори, се очертава индивидуалния профил и постигнато ниво на компетентност. Портфолиото се оформя от всеки студент още в началото на академичния курс. То се проверява и заверява от преподавателя, след което се води редовно (като дневник) по време на аудиторното обучение и извънаудиторното учене. Портфолиото отразява, подрежда и документира всичко важно, което е направено от студента: откриване, описване и запознаване с посочената от преподавател-

ля литература, усвояване на преподадения материал, самостоятелно търсене, откриване и проучване на други подходящи литературни източници, на категории и понятия в съответната област, описване на проучените книги, студии, статии, доклади и др., аотиране на по-важните материали, създаване на ново съдържание по съответните тематики в учебното пособие, допълване на терминологията, разработване на презентации, курсови проекти и др. Тази разнообразна дейност и постигнатите по-значими резултати следва акуратно и прегледно да се описват и подреждат от учещия като факти и доказателства на всеки етап от обучението. В тази си функция, портфолиото е важно средство за постигане на прегледност, подреденост и систематичност в действията на обучавания, за развитие на способност за по-реалистичен поглед и самооценка. Текстовете съдържат необходими информации и доказателства за проведеното учене и за придобитата компетентност. Ето защо, в края на всеки етап от своята учебна работа и развитие – подготовка за тест, за изпит или разработка на курсов проект, обучаваните представят на преподавателя портфолиото като своеобразен личен отчет. Данните в портфолиото обективно са необходими на преподавателя за да осъществи възможно най-компетентно и прозрачно своите контролни и доцимологични функции. Въз основа на предствените доказателства за постигнатото от студента на съответния етап, преподавателят може да начислява точки и кредити, да поставя текущи оценки, да дава препоръки, да определя готовността за изпит и да допуска до изпит.

Използването на този своеобразен учебен арсенал в подкрепа на ученето е основа за успешност на студентите и допринася за постигане на високи нива на удовлетвореност и мотивираност. Това се установява с използвания студентски въпросник (*Приложение 1*)

ПРЕПОДАВАТЕЛЯТ КАТО МЕНИДЖЪР НА ОБУЧЕНИЕТО

За разлика от студентите преподавателят е *константен компонент* на системата на обучение. Докато обучаваните влизат в системата с определени потребности от обучение и очаквания, с ниво на подготвеност, което разширяват, повишават, усъвършенстват или променят в процеса на обучението и след това излизат от системата, обучаващият остава, приема новите контингенти студенти и реализира отново педагогическия цикъл. Преди началото на всяко обучение следва да е отчетел успехите и неуспехите в предишното, условията в които ще се реализира новото обучение и т.н., като прави съответни промени в своята организация и методика. Така водените от него курсове придобиват адекватни на условията характеристики, успешно се иновират. (Катански, Атанасова, Терзииванов 2015: 96)

Иновирването е основна функция на модерния мениджмънт и това обстоятелство насочва вниманието ни към ролята на университетския преподавател като мениджър на обучението. Практически при изпълнението на тази

роля той използва пълен управленски цикъл на планиране, организиране, координиране, мотивиране, контрол и иновиране. Тези негови компетенции обхващат и постигането на качествено и ефективно обучение. Академичният преподавател е основен субект на обучението като такъв следва успешно съвместно със студентите да го провежда съобразно академичните традиции и утвърдените в медицинския факултет учебна програма и седмичен график на лекциите и упражненията по дисциплината. Като мениджър модерният преподавател следва да разкрива и оползотворява възможности за иновиране на обучението. Иновативното в случая е, че чрез специално разработения и позициониран на сайта на университетската библиотека модул „Учебни ресурси“ на студентите вече е осигурена допълнителна учебна информация и така, в рамките на т.нар. права връзка в обучението, преподавателят се освобождава от прекомерното чисто информационно преподаване. За сметка на това той се насочва към нещо много поважно – логистиката и управлението на разнообразната аудиторна и извънаудиторна дейност на студентите. Става дума за преподаване, което е експлицитно насочено към логистика на ученето и на обучаваните, които са поставени в центъра на обучението. Те от своя страна, също вече разполагат с равностойни алтернативи за своята учебна дейност – да посещават присъствените учебни занятия (лекции и упражнения), да се подготвят самостоятелно като ползват електронните учебни ресурси, да проучват и разработват определени теми, като създават нови текстове и правят компютърни презентации, както и (след съгласуване и консултиране с преподавателя) да работят по курсов проект и др. Така се постига креативно учене, насърчава се творческата активност на студентите. Самостоятелната учебна работа заема все поголям периметър от обучението и по този начин то започва да прераства в самообучение, което е показател за качество. Учебният процес е гъвкав и адаптивен, осъществява се като работа с електронните ресурси, с учебното пособие с портфолиото в удобно за студентите време, насочва ги към постигане на целите и задачите на обучението по всеки модул от съдържанието. За да се осигури интерактивност на обучението и прозрачност на учебната работа обучаваните отразяват всички свои дейности (аудиторни и извънаудиторни) и постигнатите резултати в портфолиото. Отразяването трябва да е реалистично, с ясно посочване на направеното – прекараното време в читалнята и интернет, списъци на прочетени материали, анотирани съдържания, подготвени презентации и платформи за дискусия, изготвени библиографии по проблемите на курса и др. Същевременно, постигнатото от обучаваните се доказва и с различни форми на активно участие в аудиторните занимания (лекциите и упражненията) – чрез задаване на въпроси на преподавателя, отговор на зададени от преподавателя към аудиторията въпроси, изпълнение на поставени задачи от преподавателя, подготвени материали от проучвания по теми, самоинициатива за отразяване на актуални събития, свързани с тематиките на курса, полагането на предвидените тестове и др.

Така става възможно да се осъществява по-успешно и обратната връзка в обучението – като цялостен мониторинг и контрол на преподавателя по време на курса, както и да се насърчава развитието на самоконтрола на обучаваните и на способността им за реалистично преценяване на постигнатото.

Контролът на аудиторното и извънаудиторно учене се осъществява чрез *тестове* за нивото на аудиторната и извънаудиторната учебна дейност и редовно водене на *портфолио* на ученето.

Крайната оценка се формира на основата на *изпит по конспект*, (в рамките на изпитната сесия) до който студентите се допускат след успешно полагане на тест за оценка на владенето на терминологията на курса. На студенти, които системно и активно участват в аудиторната и извънаудиторна учебна дейност, водят портфолио и са положили успешно терминологичния тест се предоставя възможност, вместо явяване на изпит по конспект, да разработят възложена от преподавателя тема (*курсов проект*) и да направят компютърна презентация на проекта за получаване на крайна оценка.

Наличието на качество и ефективност в контекста на инвизирането на обучението се индикира чрез използвания въпросник (*Виж приложение 2*). Той позволява да се установи степента на удовлетвореност на преподавателя от проведеното обучение. От получените отговори и измерената степен на удовлетвореност могат да се правят преки заключения относно постигнато съответствие или несъответствие с мнението на студентите, какви са евентуалните проблеми и причините за тях, съществуват ли неизползвани възможности за подобряване на партньорството и синергията между преподаване и учене в процеса на обучението и др. Възможно е и на основата на придобитата информация да се поддържа и своеобразен рейтинг на водените от преподавателя академични курсове с помощта на разработена от автора схема (*Виж приложение – 3*), която е част от инструментариума за определяне на нивото на удовлетвореност от обучението.

Експериментално този инструментариум вече се прилага и резултатите са много насърчителни. Конкретен пример с оценка на проведено обучение през 2015г. е представен в *Приложение – 4*. Считаю че постигнатото създава основа за продължаване на работата в това перспективно направление.

ОБОБЩЕНИЯ И ИЗВОДИ

Представените резултати от осъществените проучвания върху проблема за качеството и ефективността на обучението позволяват да се направят следните обобщения и изводи:

- Качественото и ефективно обучение в системата на висшето медицинско образование е проблематика, която изисква специално внимание и обединени действия на отговорните правителствени институции на национално ниво, както и на мениджмънта на съответните университети.

тети и факултети. Решаването на проблема изисква реална синергия на външния контрол и на институционалното и програмно акредитиране с вътрешния контрол в университетите и факултетите. Става въпрос за активни действия с превантивен характер, спомагащи както за поддържане на постигнатото ниво на качество (и на ефективност) в съответната институция, така и за продължаване на иновирането на обучението, което е основна препоставка за повишаване на неговото качество и ефективност в съответствие с динамиката на условията, потребностите на потребителите и нарастващите стандарти и изисквания.

- Съответно, инструментариумът на външното оценяване и на вътрешния контрол следва да се развива и усъвършенства. За да се случи това е нужно провеждане на продължителни и целенасочени изследвания. Научните изследвания на проблема за качеството и ефективността на академичното медицинско обучение трябва да се насърчават, както на национално ниво, така и в самите университети. Изследователските проекти, които целят иновиране на обучението с оглед тяхната актуалност и значимост би следвало да се обявят за приоритетни и съответно да бъдат финансирани и подпомагани. Сега, в много случаи се допуска подценяване и дори пренебрегване точно на такива проекти по все още действащите механизми, напр. на Фонд „Научни изследвания“.
- Считаю че акцентът в изследванията, разработките, експериментирането и прилагането на иновативни подходи и системи в академичното обучение следва да се насочи пряко към повишаване на качеството и ефективността. За целта може да се използва предложената концептуална визия с експлицитно очертаните същностни характеристики и особености на качествено и ефективно обучение. Именно тясно обвързаното разглеждане на качество и ефективност е научния възглед, който може да даде насока за постепенно създаване на ефикасни структури за вътрешен контрол и управление на качеството и ефективността на обучението в медицинските университети и факултети.
- Развитата концептуална визия със системата от индикатори, разпределени в четири основни групи може да послужи за създаване на вътрешно организационна система за контрол и управление на качеството и ефективността на обучението. механизъм за вътрешно институционален контрол и управление на качеството и ефективността на провеждани обучения в системата на висшето медицинско образование. Напълно съзнавам сложността на задачата за организирането на системата за вътрешноинституционален контрол и управление, както и необходимостта от време за нейното цялостно реализиране.
- С разработката е очертана реална възможност по-ограничено, но също така действено и полезно оценяване на качеството и ефективността. То е свързано с предложения инструментариум за определяне на нивото

на удовлетвореност от обучението. Инструментариумът е част от бъдещата система за вътрешноинституционален контрол и управление и включва два въпросника, рейтингова схема за определяне на нивото на удовлетвореността, както и формуляр за отчитане на резултатите.

- Все още ограниченото експериментално използване на инструментариума във водени от автора курсове за обучение на медицински сестри в Медицинския факултет все пак позволява да се обоснове в ограничена степен постигнатото ниво на съответния академичен курс по съществени за качеството и ефективността показатели, както и да се коментират неговите характеристики и опции за иновативно развитие.

В заключение следва да се посочи че постигнатото до тук създава основа с допълнителна изследователска дейност (евентуално в рамките на научен проект) с която да се развие реална иновативна практика за рейтингово класиране на провежданите в Медицинския факултет академични курсове и за повишаване на тяхното качество и ефективност.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

СТУДЕНТСКИ ВЪПРОСНИК

1. Какви бяха Вашите очаквания към обучението?					
■					
■					
■					
2. Доколко сте съгласен/на с твърденията? /Отбележете с X в квадратчето под избрания отговор!/ 2.1. Проведеното обучение отговори на очакванията ми.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/ на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/ на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, обосновайте отговора си!					
2.2. Преподаването беше на високо ниво и полезно за моето аудиторно учене.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/ на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/ на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, обосновайте отговора си!					
2.3. Дистанционното ползване на електронна библиотека помогна на извънаудиторното ми учене.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/ на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/ на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, обосновайте отговора си!					

2.4.Ученето ми съответстваше напълно на нивото на преподаването.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/ на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/ на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, обосновайте отговора си!					
2.5.Придобитите знания, умения и компетентност от обучението ще ми бъдат от полза.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/ на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/ на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, обосновайте отговора си!					
3.Какви са Вашите предложения за обучението?					
■.....					
■.....					
■.....					

ПРИЛОЖЕНИЕ 2
СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

ВЪПРОСНИК ЗА ПРЕПОДАВАТЕЛЯ

1. Какви бяха Вашите очаквания за обучението?					
■					
.....					
■					
.....					
■					
.....					
2. Доколко сте съгласен/на с твърденията? /Отбележете с X в квадратчето под избрания отговор!/ 2.1. Проведеното обучение отговори напълно на очакванията ми.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, <i>обосновете</i> отговора си!					
.....					
.....					
2.2. Аудиторното учене беше на високо ниво и успешно партнираше на моето преподаване.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, <i>обосновете</i> отговора си!					
.....					
.....					
2.3. Извънаудиторното учене използва пълноценно създадените от преподаването учебни ресурси.					
Напълно съгласен/на 6	Съгласен/на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Моля, <i>обосновете</i> отговора си!					
.....					
.....					

2.4.Преподаването ми (аудиторно и извънаудиторно) съответстваше напълно на нивото на ученето.

Напълно съгласен/на 6	Съгласен/на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Моля, *обоснете* отговора си!

.....

.....

2.5.Придобитите знания, умения и компетентност ще бъдат полезни на обучаваните.

Напълно съгласен/на 6	Съгласен/на 5	Умерено съгласен/на 4	Умерено несъгласен/на 3	Несъгласен/на 2	Напълно несъгласен/на 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Моля, *обоснете* отговора си!

.....

.....

3.Какви са Вашите предложения за обучението?

■.....

.....

.....

■.....

.....

.....

.....

.....

ПРИЛОЖЕНИЕ 3 РЕЙТИНГОВА СХЕМА

Рейтинг на курса в точки и в бална оценка

(Максимален брой точки – 30, Минимален брой точки – 5, Максимален бал – 6, Минимален бал – 1)

<u>Нива:</u>	<u>Брой точки</u>	<u>Оценка с думи</u>	<u>Цифрова оценка</u>
.....			
■ Първо ниво – 5 т.,		<i>Много ниска</i> степен на удовлетвореност	(Оценка – 1)
■ Второ ниво – от 6 до 10т.,		<i>Ниска</i> степен на удовлетвореност	(Оценки – 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2)
■ Трето ниво – от 11 до 15т.,		<i>Слаба</i> степен на удовлетвореност	(Оценки – 2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 3)
.....			
■ Четвърто ниво – от 16 до 20т.,		<i>Средна</i> степен на удовлетвореност	(Оценки – 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 4)
.....			
■ Пето ниво – от 21 до 25т.,		<i>Висока</i> степен на удовлетвореност	(Оценки – 4.2, 4.4, 4.6, 4.8, 5)
■ Шесто ниво – от 26 до 30т.,		<i>Много висока</i> степен на удовлетвореност	(Оценки – 5.2, 5.4, 5.6, 5.8, 6)
.....			

Индивидуалната цифрова оценка за удовлетвореност се получава като сумата от събраните точки се раздели на 5 (т.е. на броя на дадените оценки във втория сектор на студентския въпросник.

Средната цифрова оценка на удовлетвореността в курса се получава като сумата от индивидуални оценки се раздели на броя на въпросниците.

Средната цифрова оценка се съпоставя с **индивидуалната цифрова оценка** на удовлетвореността на преподавателя. Нормално е те да са сходни или идентични.

На база получения резултат курсът се класира, както следва:

■ В първо – трето ниво (с оценка от 1 до 3) – *проблемни курсове с нисък рейтинг, изискващи специално внимание и основно преработване.*

■ В четвърто ниво (с оценка от 3.2 до 4) – *рутинно провеждани курсове с добър рейтинг, изискващи мерки за доразвиване и усъвършенстване в различни отношения, в съответствие с очакванията и предложенията на студентите и на преподавателя.*

■ Пето – шесто ниво (от 4.2 до 6) – *курсове с висок рейтинг, които могат да се разпространяват като иновативни практики, като и да се актуализират и усъвършенстват в съответствие с динамиката на условията и изискванията на академичното обучение.*

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

РЕЙТИНГ

на академичния курс по „Принципи и методика на обучението“
с бакалаври, специалност „Медицинска сестра“, академична 2014–15 г., първи курс,
втори семестър.

Място на провеждане на процедурата: **Медицински факултет на „СУ Св. Климент Охридски“**
Преподавател: **доц. д-р Чавдар Катански**

Оценката на нивото на удовлетвореност на студентите от обучението е поставена на база резултатите от 17 коректно попълнени въпросника.

Рейтингът на курса е определен, както следва:

ТАБЛИЦА

<u>Набрани точки</u>	<u>Бална оценка</u>
Максимален брой точки – 30	Максимален бал – 6
Минимален брой точки – 5	Минимален бал – 1

<u>Нива</u>	<u>Брой точки</u>	<u>Оценка с думи</u>	<u>Оценка с цифри</u>	<u>Брой отговорили</u>
-------------	-------------------	----------------------	-----------------------	------------------------

■ Първо ниво – 5 т., *Много ниска* степен на удовлетвореност (1) (0)

■ Второ ниво – от 6 до 10т., *Ниска* степен на удовлетвореност (1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2) (0)

■ Трето ниво – от 11 до 15т., *Слаба* степен на удовлетвореност (2.2, 2.4, 2.6, 2.8, 3) (0)

Коментар: (При оценка от 1 до 3) *Проблемни курсове с нисък рейтинг, изискващи специално внимание, основно преработване или да отпадат.*

.....

■ Четвърто ниво – от 16 до 20т., *Средна* степен на удовлетвореност (3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 4) (0)

Коментар: (При оценка от 3.2 до 4) *Рутинно провеждани курсове с добър рейтинг, изискващи мерки за доразвиване и усъвършенстване в различни отношения, в съответствие с очакванията и предложенията на студентите.*

.....

■ Пето ниво – от 21 до 25т., *Висока* степен на удовлетвореност (4.2, 4.4, 4.6, 4.8, 5) (2)

■ Шесто ниво – от 26 до 30т., *Много висока* степен на удовлетвореност (5.2, 5.4, 5.6, 5.8, 6) (15)

Коментар: (При оценка от 4.20 до 6) *Курсове с висок рейтинг, които са иновативни, съответстват на разумните очаквания на студентите и могат успешно да се развиват в съответствие с възприетите от преподавателя студентски предложения.*

.....

Индивидуалната цифрова оценка за удовлетвореност се получава като сумата от събраните точки се раздели на 5 (т.е. на броя на дадените оценки във втория сектор на студентския въпросник. В случая са получени следните оценки: 5.8 –**3бр.**, 5.6 –**7бр.**, 5.4 –**3бр.**, 5.2 –**2бр.**, 5 –**2бр.**

Средната цифрова оценка се получава като сумата от индивидуални оценки се раздели на броя на въпросниците. В случая: **93.2** разделено на броя на въпросниците – **17** е равно на **5.4**

.....
Оценката на удовлетвореност на преподавателя от курса е **26 т. (5.2)**, т.е. тя е сходна с горната оценка.

Краен резултат от проведената процедура:

■ Регистрирана е **много висока степен на удовлетвореност** на студентите. Проведеният курс попада в **Шесто ниво** на рейтинговата схема (от 5.20 до 6) *Ползва се с висок рейтинг, иновативен е, съответства на очакванията на студентите и може успешно да се развива в съответствие с динамиката на условията и изискванията на академичното обучение.*

Дата: 15. 06. 2015г.

ЛИТЕРАТУРА

- Катански, Ч., И. Атанасова, Д. Терзииванов. Академичното обучение по фармакология в прехода към учене през целия живот. Годишник на Софийския университет „Св. Климент Охридск“ – (Медицински факултет), с. 63–107, 2015.
- Катански, Ч. Учебник DIMEL Принципи и методика на обучението (основни тематика и термини), СИЕЛА, Програма образование, София, 2014.
- Катански, Ч. Студентско портфолио DIMEL по принципи и методика на обучението. СИЕЛА, Програма образование, София, 2014а.
- Катански, Ч. Медицинска педагогика и медицинска антропология. В: Здравна политика и мениджмънт, кн.1, с. 56–60, 2014б.
- Катански, Ч. Андрагогически подход към качеството и ефективността на професионалното обучение на възрастни (ретроспективно изследване), In: Bulgarian Journal of Science and Education Policy (BJSEP), Volume 3, Number 1, p. 57–77, St. Kliment Ohridsky University of Sofia, 2009а.
- Katansky, C.. Quality and effectiveness of vocational training for adults (a socio-pedagogical interpretation). Bulgarian J. Science & Education Policy, 2, 107–126, 2008
- Катански, Ч. Проучване и анализ на системата за професионално обучение на възрастни в Република България (теоретико-методологични аспекти, Статистика, кн.2, 70–90, НСИ, София, 2007.
- Морита, А. и др. Made in Japan (Произведено в Япония). Дике, София, 1992.
- Prokopenko, J. Productivity management: a practical handbook. Intern. Labor. Org. Geneva, 1987.

Дата на постъпване: 24.02.2016 г.

ONSET OF HAEMOCHROMATOSIS WITH LEFT VENTRICULAR FAILURE AND MULTISYSTEM INVOLVEMENT

IVA GASHAROVA*, MARIA RADKOVA, JANET GERGELCHEVA,
GERGANA LAZAROVA, PROF. TEMENUGA DONOVA,

Department of Cardiology, University Hospital “Lozenetz”, Medical Faculty
Sofia University “St. Kliment Ohridski” Sofia

Ива Гашарова, Мария Радкова, Жанет Гергелчева, Гергана Лазарова, Теменуга Донова КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ХЕМОХРОМАТОЗА С ИЗЯВА НА ОСТРА ЛЕВОСТРАННА ЗАСТОЙНА СЪРДЕЧНА НЕДОСТАТЪЧНОСТ И ПОЛИОРГАННО ЗАСЯГАНЕ

Представя се 40 годишна пациентка с прояви на остра левостранна застойна сърдечна недостатъчност. По време на диагностичния процес се открива полиорганно засягане с дилатирана лява камера, хепатомегалия (без белези на цироза), новооткрит захарен диабет, хипогонадизъм изразен с ранна менопауза, кожни пигментации, болки по ставите с артрозни изменения, както и редица лабораторни отклонения: високи нива на серумно желязо и феритин, високо трансфериново насищане. Обсервира се хемохроматоза. Впоследствие диагнозата се потвърждава чрез МРИ на черен дроб, с данни за множествени огнища от железни депа. Миокардът се засяга само в 15 % от случаите с хемохроматоза и обичайно първите клинични белези са хепатомегалия и повишени стойности на трансаминазите. В случая пациентката се представя с прояви на остра застойна сърдечна недостатъчност, мимикрирайки вирусен миокардит, в контекста на вирусна инфекция с кашлица, болки в гърлото, хрема, миалгии и атралгии. Скоро след като диагнозата беше поставена и правилното лечение с ежеседмични кръвопускания бе започнато, пациентката се подобри значително. Представеният случай може да помогне в разпознаването на различните манифестации на хемохроматозата, която е една от най-честите наследствени заболявания.

* For contacts: Iva Gasharova, MD Department of Cardiology, University Hospital “Lozenetz”, Sofia, Koziak 1, 1000 Sofia, Bulgaria

Ключови думи: хемохроматоза, остра сърдечна недостатъчност, пътища на диагноза и лечение

A patient presented with acute left ventricular failure. During the diagnostic process, multisystem involvement was revealed with: dilatated left ventricule, hepatomegaly, without signs of cirrhosis, onset of diabetes mellitus, hypogonadysm, express with early amenorrhoea, skin pigmentations, arthralgias, connected with high iron and ferritin levels, high transferin saturation. Thereafter the diagnosis was confirmed with MRI of the liver, showed multifocal iron depots.

Involvement of the myocardium is only in the 15% of the patients with haemochromatosis, and usually the first clinical feature is hepatomegaly with elevated transaminases levels. (The patient reported here presented with acute congestive heart failure mimicking viral myocarditis in the context of viral infection with coughing, sore throat, rhinitis, myalgias and arthralgias. Soon after the diagnosis was determined and proper treatment with weekly phlebotomy was initiate the patient improved significantly. The presentation of this case may aid others in recongnizing the varied manifestation of the haemochromatosis, which is one of the mostly seen inherited disorders.

Key words: haemochromatosis, acute heart failure, pathways for diagnosis and treatment

A 40 –years-old woman, working as a forester, was admitted to the Cardiology department of University hospital “Lozenetz”, Sofia, Bulgaria, on November 4, 2008, with a one week history of early fatigue after small exertions, physical and nocturnal dyspnea, leading to orthopnea, tightening in the throat, arthralgias, stiffness and swellings especially at II and III metacarpofalangeal joints, myalgias. For these complaints she was treated with antibiotic therapy without any improvement. She was in amenorrhoea from 5 years. She denied any contact with infected people or animals, nor bites from insects, no traveling abroad.

On physical examination: she had 36.6 C degrees. Her skin had hyper pigmentations on the extensors side of the fingers of upper and lower extremities / fig.1/



Fig. 1. Showed the hyper pigmentations of the fingers

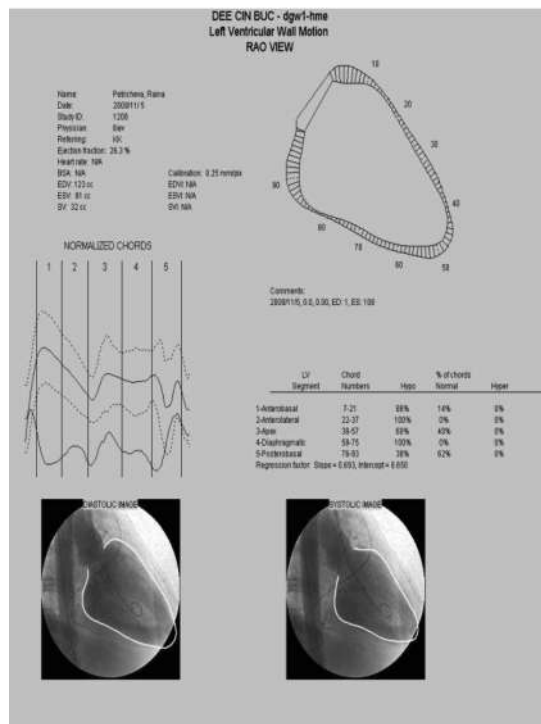
She was in moderate respiratory distress, hardly took lying position, rales in the pulmonary bases. Blood pressure was 110/80, pulse 80 per min, a holosystolic murmur 3/6 was presented with irradiation to the axilla. There weren't any hepatot splenomegaly. No lower extremities edema .

The initial laboratory data included: normal blood cell count, differential and an erythrocyte sedimentation rate, high CRP 35 mg/l, in the biochemistry – high blood sugar levels- 14.9mmol/l, high billirubin levels – total 80, direct 15.2 mmol/l, , high iron levels 43.4 umol/l, low TIBC 44.3 umol/l, high ferritin > 1000ng/ml, tranferin saturation 89%. Other blood chemistry and also thyroid hormones, AST, RF were in normal range and most of all the transaminases were normal too. All microbiological cultures gave negative results.

The ECG was with monofocal ventricular extrasystoles and negative T waves in V1-V6.

The chest X ray showed hydrothorax in both sides of the lungs, with interstitial edema.

The Echocardiography showed enlarged left ventricle: ESD 47mm, EDD 56mm, and dilatated right ventricle: EDD 33mm, diffuse hypokinesis, low ejection fraction 33%, severe mitral regurgitation with fibrosed leaflets and dilatated ring, mild functional tricuspid regurgitation, minimal pericardial effusion, pulmonary hypertension 45mmHg



On the X ray of her upper extremities osteoporosis and osteoarthritis at the II and III metacarpofalangeal joints

On the second day of her hospital stay a selective coronary arteriography, left ventriculography and right cardiac catheterization were performed. The coronary arteries were without any stenoses. There were mild pulmonary hypertension 45/25 mean 35, high teledyastolic pressure in both ventricles, in the right – 20 mm Hg and in the left - 30mmHg/ fig.2/

Fig. 2. The results of the cardiac catheterization with ventriculography

The ultrasound diagnosis of the abdominal organs showed severe hepatic steatosis with no signs of cirrhosis.

The MRI of the abdominal organs revealed diffuse haemosiderin depots in the liver. (2,8,9)

The MRI of the heart also clearly showed the same depots in the myocardium. /Fig.3/

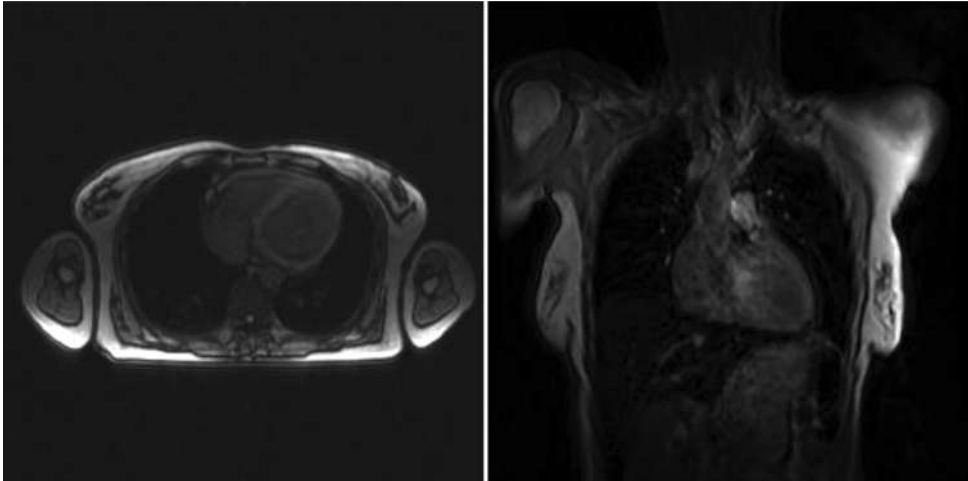


Fig. 3. MRI of the heart of the patient in two projections

Genetic investigation for HFE / Cys 282 X and His 63G / were the last proof to ensure in the right diagnosis – hemochromatosis.(1,19,20).

Treatment with every week phlebotomy under supervision of gastroenterologist was performed for 6 months along with anticongestive therapy and the patient was readmitted in the hospital.

She was noticeably improved. No any complaints. No physical signs for heart failure, no rales in her lungs, no holosystolic murmur, no hepatomegaly, nor peripheral edema.

From the laboratory findings only high blood sugar levels 9,2 mmol/l , high iron levels 48.6 umol/l and high ferritin levels >1000ng/ml were pathological. The others were in normal ranges.

The ECG was without any repolarization changes.

The echocardiography showed normal proportions of the heart chambers, no kinetic disorders, ejection fraction 45 %, mild mitral regurgitation, no pulmonary hypertension- 25 mmHg.

The abdominal ultrasound showed mild steatosis of the liver.

The MRI of the heart also depicted improved cardiac function.

The patient was discharged from the hospital with the same treatment and also antidiabetic medicine was added to her scheme.

DISCUSSION:

HFE associated Haemochromatosis, also called Celtic curse is among the most common inherited disease in USA, the most common genetic liver disorder in Europe, and the most common autosomal recessive disorder known in humans (7,8,9,13,14,18). Although how HFE regulates iron homeostasis is still unknown, the disease appears to result from a loss of HFE function (5,10). The mutation in 83% of the cases of HH is a single base change that converts Cys 260 to Tyr (C260Y) (10). However the expression of the disease is rare and is modified by several factors- alcohol consumption, iron intake, blood donation, ect (8,11,22). In Bulgaria this case is one of the 5 idiopathic hemochromatosis diagnosed and properly treat.(2)

The disease refers to progressive iron overload, leading to fibrosis and multiorgan failure (3,7,13,14,19). Cirrhosis of the liver, diabetes mellitus, arthritis, cardiomyopathy and hypogonadotropic hypogonadism are the major clinical manifestation (3,7,13,14,19,22). Also skin pigmentation referred as bronzing as a result from increased melanin and iron in the dermis. And arthritis of the II and III metacarpofalangeal joints. But usually the onset of the disease is with liver cirrhosis, 95 % of the patient have hepatomegaly, high levels of transaminases and in only 15 % of the patients have cardiomyopathy. (3,7,11,12,17,19)

This case is interesting because it reveals mainly by symptoms of heart failure, on the base of dilatated cardiomyopathy also in the context of viral infection and the etiology of these symptoms wasn't obvious. (12,17) Most of all the symptoms disappear thoroughly only 6 months after the proper treatment(1,2,7,17,18).

In conclusion the patients with hemochromatosis aren't common in the cardiology department and this case can help the physicians to reveal the disease in the early stage, diagnose it easily, treat it properly and dramatically improve the prognosis and quality of life for their patients.

It is useful to investigate the levels of serum iron in patients with dilatated cardiomyopathy, which is with unclear etiology and if there are clues for hemochromatosis, the MRI of the heart and liver can verify the diagnosis if there is no possibility for liver biopsy (4,5,9,15,16,20,21).

REFERENCES

1. Диагностичен и терапевтичен алгоритъм (консенсус) българско научно дружество по гастроентерология. Идиопатична хемокроматоза. Българска хепатогастроент. Г2010 КН.1
2. Драгнева С. Генетични изследвания при хронични метаболитни заболявания на черния дроб – Дисертационен труд - София, 2015
3. Adams PC, Barton JC. Haemochromatosis. *Lancet* 2007; 370:1855–1860
4. Adams, P.C., Reboussin, D.M., Barton, J.C. et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med.* 2005; 352: 1769–1778 14.
5. Aguilar-Martinez P, Grandchamp B, Cunat S, Cadet E, Blanc F, Nourrit M, Lassoued K, Schved JF, Rochette J. Iron overload in HFE C282Y heterozygotes at first genetic testing: a strategy for identifying rare HFE variants. *Haematologica.* 2011 Apr;96(4):507–14.
6. Andersson GJ, Powell LW. HFE and non-HFE hemochromatosis. *Int J Haematol.* 2002; 76:203–207
7. Bacon BR¹, Adams PC, Kowdley KV, Powell LW, Tavill AS; Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases.
8. Beutler, E, Felitti, VJ, Koziol, JA, et al. Penetrance of 845G-A (C282Y) HFE hereditary hemochromatosis mutation in the USA *Lancet* 2002;359: 211–218.
9. Dooley JS¹, Walker AP., Genetic hemochromatosis: detection, management, and population screening, *Genet Test.* 2000;4(2):97–101
10. Feder JN et al , A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. , *Nat Genet.* 1996 Aug; 13(4):399–408.
11. Fletcher, LM, Dixon, JL, Purdie, DM, et al. Excess alcohol greatly increases the prevalence of cirrhosis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 2002;122: 281–289.
12. Gujja P¹, Rosing DR, Tripodi DJ, Shizukuda Y., Iron overload cardiomyopathy: better understanding of an increasing disorder. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Sep 21;56(13):1001–12. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.083
13. Harrison, SA, Bacon, BR. Hereditary hemochromatosis: Update for 2003. *J Hepatol* 2003;38(Suppl 1):S14-S23
14. Jacob Alexander¹ and Kris V Kowdley^{1,2}. HFE-associated hereditary hemochromatosis, *Genetics in Medicine* (2009) 11, 307–313; doi:10.1097/GIM.0b013e31819d30f2
15. Jensen PD¹, Jensen FT, Christensen T, Ellegaard J, Non-invasive assessment of tissue iron overload in the liver by magnetic resonance imaging., *Br J Haematol.* 1994 May;87(1):171–84.
16. John K Olynyk MD, Timothy G St. Pierre PhD, Robert S Britton PhD, Elizabeth M Brunt MD and Bruce R Bacon, Duration of Hepatic Iron Exposure Increases the Risk of Significant Fibrosis in Hereditary Hemochromatosis: A New Role for Magnetic Resonance Imaging *The American Journal of Gastroenterology* (2005) 100, 837–841; doi:10.1111/j.1572-0241.2005.41287.x
17. Murphy CJ¹, Oudit GY., Iron-overload cardiomyopathy: pathophysiology, diagnosis, and treatment *J Card Fail.* 2010 Nov;16(11):888-900. doi: 10.1016/j.cardfail.2010.05.009. Epub 2010 Jul 3.

18. Olynyk, JK, Hagan, SE, Cullen, DJ, et al. Evolution of untreated hereditary hemochromatosis in the Busseton population: A 17-year study. *Mayo Clin Proc* 2004;79: 309–313
19. Pietrangelo A. Hemochromatosis: an endocrine liver disease. *Hepatology* 2007; 46:1291–1301.
20. St Pierre, TG, Clark, PR, Chua-Anusorn, W, et al., Non-invasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance, *Blood* 2004(prepublished online July 15)
21. Thomsen C, Wiggers P, Ring-Larsen H, Christiansen E, Dalhøj J, Henriksen O, Christoffersen P., Identification of patients with hereditary haemochromatosis by magnetic resonance imaging and spectroscopic relaxation time measurements. , *Magn Reson Imaging*. 1992; 10(6):867–79
22. Wallace DF and Subramaniam VN. Co-factors in liver disease: the role of HFE-related hereditary hemochromatosis and iron, *Biochim Biophys Acta* 1790 (2009), 663–670.

Received: 03.11.2016

ГОДИШНИК НА СОФИЙСКИЯ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Том 2

ANNUAL OF SOFIA UNIVERSITY “ST. KLIMENT OHRIDSKI”

FACULTY OF MEDICINE

Volume 2

АНКЕТНО ПРОУЧВАНЕ ОТНОСНО СТИЛА НА МЕНИДЖМЪНТ И ЛИДЕРСТВО В УПРАВЛЕНИЕ НА БОЛНИЦА

КАРИНА БЛАГОЕВА*

Клиника по вътрешни болести, Университетска болница „Лозенец“,
Медицински факултет, СУ „Св. Климент Охридски“

KARINA BLAGOEVA QUESTIONERS INVESTIGATIONS ON THE STYLE AND LEADERSHIP IN HOSPITAL MANAGEMENT

In the leadership theory and practice the styles of management and the leadership approaches are one of the most discussed fields. This current topic is extremely important for the overall management of the health institutions, especially now in the dynamic position in which are involved and with all of the challenges that they should stand up. Although the extreme number of publications and discussions regarding this issue, the problem remains incomplete and there is still a lot to say, especially regarding the healthcare system

The purpose of the study is to give a brief statement of the main points and to determine the skills that an excellent manager should have. He should estimate all of the important moments and should be a leader, who motivate his employees. He should be well-organized, with the right behavior and organizational culture and meanwhile he should guide successfully. He should submit the right approaches during different situations at work, should find the right qualities as a general manager, appreciated by his employees and the methods that will stimulate their effective work during every single case of the everyday practice.

The values, the meaning and the importance of the management, change for the companies, as well as for the personality of the leader. We are not talking about some kind of evolution in any technology, machine or software, neither of the increasing of the speed, we are talking about a revolution of the concept of managing.

* *За контакти:* д-р Карина Благоева, дм, Клиника по Вътрешни болести, Университетска болница „Лозенец“, e-mail: karin_blagoeva.89@abv.bg

В управленската теория и практика стиловете на мениджмънт и лидерските подходи са едни от често дискутираните области. Темата безспорно е изключително важна и актуална за цялостното управление на здравните заведения с оглед динамичното състояние, в което се намират и предизвикателствата пред тях. Проследяването на литературата показва, че независимо от големия брой публикации в областта, този проблем остава неизяснен цялостно, конкретно в здравеопазната система.

Целта на проучването е да се обобщят принципите и качествата на мениджър-лидер, който успява да оцени качествено всички съществени моменти, да бъде ръководител, който успява да мотивира служителите си, да притежава точното организационно поведение и организационна култура и същевременно да управлява успешно. Да представи кои са правилните подходи в различните ситуации по време на работа, качествата, които служителите ценят в своите ръководители, методите, които ги стимулират да работят по-ефективно в отделните ситуации от ежедневната практика.

Променят се ценностите, смисълът и значението на управлението както за организациите, така и за отделните личности: това не е революция в технологията, машините, техниката, софтуера или бързината и скоростта, това е революция на концепциите за управление.

ВЪВЕДЕНИЕ

Ефективността на управлението на едно здравно заведение отразява взаимовръзката между поставените управленски цели, съществуващите условия, ефектите от дейността на управлявания субект, крайните резултати на организацията и изразходваните ресурси.

Ефективността е едно от основните оценъчни понятия на управлението. Тя е сложно понятие, което се определя от множество фактори. Основна фигура за ефективността на работата в едно здравното заведение е ролята на мениджъра.

Мениджмънтът е изкуството да се постигне ефективно функциониране на управляваната система именно в условията на ограничени ресурси. Стилът на мениджъра отразява цялостния му подход, типичното му поведение и отношение към подчинените в процеса на вземане на решения и управлението на власт.

МЕТОДИКА НА ПРОУЧВАНЕТО

За емпиричното изследване е приложен социологическият метод на база анкета. Анкетата беше проведена в писмен вид в няколко здравни заведения в гр. София – избрани на случаен принцип. Проучването е проведено в анонимна форма. Въпросите в анкетата са избрани на базата на вече забелязани проблеми от литературния обзор.

Бяха анкетирани сто човека в пет здравни заведения: Петдесет и девет, от които – мъже и четиридесет и един – жени. В анкетата участваха служители в различна възрастова група. Петдесет и шест от анкетираните са на възраст от двадесет до четиридесет години. Четиридесет от запитаните на възраст от четиридесет до шестдесет години и останалите са на възраст над шестдесет години.

Изследването се проведе в двуседмичен период. В анкетата бяха включени единадесет въпроса по четири обособени подтеми:

- 1) Качества
- 2) Подходи
- 3) Кризистни ситуации
- 4) Оценка на текущото ръководство

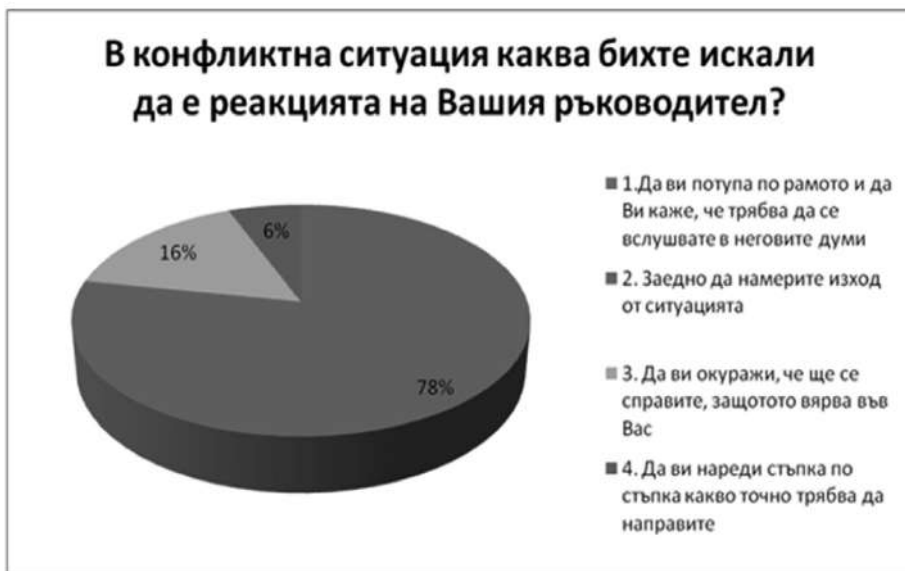
МЕТОД НА ОЦЕНКА

Анкетата представлява запитване в писмен вид, зададено към изследваните обекти. Тя предоставя значително независими резултати, тъй като бива изготвена анонимно. Събраните данни бяха оценени количествено и качествено по метода на консолидиране на резултати и последващото им обобщаване на база „значимост“ на информацията. „Значимост“ следва от количествени феномени както и от конкретни наблюдения на образуваща се тенденция или изразено мнение в разрез с вече възприетите норми.

АНАЛИЗ И ОЦЕНКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

I. Анализ на резултатите

1. Какъв подход от ръководителя се предпочита в конфликтна ситуация?



Фиг. 1. Реакция в конфликтна ситуация

78% от анкетираните са отговорили, че предпочитат в конфликтна ситуация заедно с ръководителя си да намерят изход от ситуацията. Нито един от анкетираните не иска да бъде упрекван.

Извод 1: Това означава, че анкетираните очакват по-либерален стил на управление към себе си. Търсенето на възможност „заедно решаваме“ конфликта е равномерно разпределено на властта по направленията „свобода“ – „директивност“, т.е. подобен отговор може да се интерпретира като „ние искаме да бъде зачетено нашето мнение, но не само това, а разчитаме нашите идеи да бъдат част от решението“.

До сходен извод се достига и след анализ на друг въпрос от анкетата. Запитани кой подход ги мотивира при изпълнението на дадена задача, служителите отново наблягат на фактора: „свобода“. 40% отговарят, че искат ръководителят да остави решението изцяло в техни ръце; със значителна пропорция са и другите два отговора, предполагащи поне частично участие във вземането на решение.

Проблематичен изглежда отговорът с най-висок процент. Голяма част от запитаните смело го отбелязват, но дали в конкретната ситуация ще се доверят на преценката си или все пак ще потърсят мениджъра, очаквайки той да претегли ситуацията и да поема отговорността? Фактор за значимостта на посочения отговор би могло да бъде също така средата в здравните заведения. Има се предвид, че средата е много динамична и медицинският перосал е по-скоро свикнал да взема самостоятелни решения в напрегнати ситуации.

Обобщено анализът на тези въпроси води до изводът, че подходът „заедно решаваме“ е предпочитан от служителите, независимо от формата и градусът на участие. Съществено е да бъдат част от решението.

2. Какво стимулира служителите да дадат всичко от себе си в работата?

Анкетираните отбелязват като най-водещ стимул за работа на първо място: „допълнителни бонуси при постигнати резултати“; на второ място – „по-високо основно (трудова) възнаграждение“; трето място – „обмяна на опит с колеги от други държави“ и „допълнителни обучения за повишаване на квалификацията“ – равен брой; четвърто място – „точно разпределение на работата“; пето място – „организиране на колективни мероприятия (team-building, служебни тържества)“. Като най-малко стимулиращо запитаните поставят социалните придобивки и строгото и стриктно наблюдение.

Извод 2: Този резултат е доста очакван за България. Масово хората смятат, че техните усилия не са достатъчно възнаградени. Българинът, поради усещането си за несигурност и ниска себеоценка често компенсира тези компоненти с по-доброто заплащане. Причината за тези отговори се свързват с чувството на недооцененост и сравняване със заплащането в другите държави. Хората имат основание да мислят по този начин, защото виждат примери на добре реализирани се техни колеги в други култури, но те не са съобразе-

ни с особеностите и възможностите на нашата държава. Фактът, че посочват като стимул на последно място колективните мероприятия, сработването на екипите говори, че Българинът често смята, че постиженията са плод на индивидуалните усилия, а не на колективните такива. Много експерименти са правени, за да се докаже, че повишаването на заплатите, (без преди това да се направят промени в квалификацията на служителите, подобряване на екипността, усъвършенстване на комуникацията в екипите, работа със спазване на правила, стратегическо планиране, синергия и други) не води до повишаване на ефективността на работата. Логично е да се направи извода, че без да се промени нищо в своите ценности, поведение, работна среда, навици няма как с оптимизиране на заплатата да се очаква по-високо ефективност.

От друга страна се забелязва тенденцията, че освен материален интерес, значима част от запитаните отчитат и необходимост от допълнителни обучения и обмен на опит. В конкурентна среда стимул за работа е често личностното развитие и израстване в професионалната сфера. Служителите се мотивират, когато работодателят насърчава тяхното личностно развитие, спомага за допълнителни обучения и стимулира желанието им да бъдат конкурентни. С развиващата се технология пазарната среда изисква и по-високо квалифицирани служители, което изисква гъвкавост и постоянна актуализация на компетенциите.

3. Представа за успешен лидер според анкетираните

По-голяма част от запитаните определят успешния лидер като комуникативен, справедлив, компетентен, амбициозен, инициатор на идеи, смел, отговорен, да умее да делегира и разпределя задачи и отговорности, да умее да предава знания и опит, да бъде част от екипа и да го сплотява, в кризисни моменти – да е решителен и да поемана отговорност, респектираш, възискателен и вдъхващ доверие, дисциплиниран, да е информиран и иновативен, уравновесен, изслушващ, отговорен, да държи на персонала си, интелигентен, да познава целия колектив, да защитава интересите на екипа си и да организира работата си, „с добър набор от познания от всяка област и високо компетентен в конкретната“; Справедлив, достатъчно строг, когато е необходимо, не много емоционален и премерено толерантен.

Извод 3: В отговорът на този въпрос се вижда едно общочовешко очакване за профила на успешния лидер – всичколог. Тези качества говорят за една универсална личност, към която се отправят сериозни очаквания. Този лидер се трансформира в нещо като „Спасителя“, една метафора, която не е непозната за нашите географски ширини. А щом има спасител някъде трябва да има и жертва. Това е универсален човек, който се очаква да спаси хората от неволите. Последните няколко отговора „не много емоционален и премерено толерантен, справедлив, достатъчно строг“ дават основание за извода, че тази универсална спасителна личност е метафора на покровите-

ля, която често трябва да защитава беззащитните „жертви“. Легитимирането на подобни лидери не е непознато в нашето общество, което често е било подвеждано от „харизматични“ лидери с авторитарна строгост и премерена толерантност. Подобно очакване от такъв профил лидери предизвиква усещането, че „някой друг трябва да ни спаси“, а това е прехвърляне на отговорността към богопомазания лидер, който трябва да спаси хората сами предали свободата си. До известна степен тези нагласи са свързани с „делегирането на свободата“ на някой друг (лидер), според Ерих Фром („Бягство от свободата“). Някой друг „да ме освободи“ и да ме покровителства е форма на избягване на лична и отговорност и пренасочване на тази отговорност към лидер, тип „Спасител“.

4. Кои са съществените качества за ефективния мениджър – еталон?

Ефективният мениджър-еталон според анкетирания трябва да бъде на първо място компетентен (76 %). Анкетирания поставят това качество на първо място, а останалите 24% процента се разпределят между комуникативен, амбициозен, инициращ идеи, дисциплиниран и толерантен.

Извод 4: Компетентен като основен фактор за ефективния мениджър според запитаните е качество, което е необходимо на всички нива в работната организация. Компетентно би следвало да бъде не само ръководството, но и всеки служител, в областта, в която работи. Търсенето на този критерий в личността на мениджъра, би могло да бъде обяснено с следните две хипотези:

– Служителите разполагат с недостатъчна квалификация и познания и затова търсят в ръководителя си човекът, който ще бъде „гръб и опора“ в конкретни ситуации.

Чувството на несигурност и липса на самочувствие у служителите често компенсира това с очакване мениджъра да бъде експерт и в трудни моменти да помага и да учи. Очакваната компетентност от мениджъра е покриване на личната несигурност и слаба самооценка на служителите. Между тях има пропорционалност – колкото служителите са по-неуверени, толкова повече те очакват компетентност у своя мениджър.

– Служителите разполагат с необходимия обем от информация и качества, но считат често ръководството си за по-некомпетентно и неквалифицирано от тях. Често такива ситуации водят до демотивация на персонала, който възприема такава организация като „нечестна“ и „нефункционална“. Трудно се прощава некомпетентност, особено ако тя е свързана с „моя шеф“. Мениджърът е натоварен с твърде много очаквания и често усещането му е, че го подлагат всеки ден на изпит. Служителите са готови да простят някой управленски слабости, но некомпетентност в шефа си трудно прощава. Това и до известна степен е свързано с медицинската професия, където компетентността е орисана да бъде търсена, защото мениджъра, често е лекар, който трябва хем да управлява, хем трябва да е добър професионалист.

Анализът на този въпрос както и неясно обособените качества освен първо място, води и до още един извод, а именно, че служителите често искват ръководството да бъде един съвкупен образ от множество качества и компетенции. Представата е, както и по-горе споменато, за „всезнаеща“ и „всеможеща“ личност. Проблемните точки по този извод биха били отново две: На първо място често лидерите не притежават всички тези многобройни качества, но също така и често те не биха били необходими, за постигане на целите на управляващото звено. Това е фактор, когато ръководителят има предимно организационна дейност и рядко се налага да взема професионални решения по сериозни проблеми (често в случаите, когато персоналът е високо квалифициран и/или има различни поднива на ръководство и структурата е разпределена така, че значимите решения се взимат от началник отделения, а не от мениджъра на болницата).

5. Определящи черти в стила на прекия ръководител

При 40% от анкетираните преките им ръководители обсъждат решенията си с тях.

При 26% от запитаните ръководителите им вземат решенията сами.

При 24% от анкетираните по-голяма част от решенията взема с участие на подчинените.

Само 10% отговарят, че ръководителите им вземат решенията само чрез пълен консенсус с тях и при тяхното активно участие .



Фиг. 2. Стил на поведение на ръководителя

Извод 5: Може да се каже, че сред медицинските работници се забелязват тенденции за търсене на по-либерални ръководители, които взимат решенията си, след като ги обсъдят със своите експерти и служители. Това означава, че съществува взаимно доверие и ръководителите се опират на възможността за постигане на „заедност“ във взимането на решения и тяхното реализиране. Но не трябва да се забравя, че едно е да обсъдиш решенията си с екипа, друга е да вземеш самостоятелно решение, което не се опира на дадените от екипа такива. Често мениджърите събират идеите на екипа си, но взимат съвсем различни решения. Събирането на мнения от екипа често напомня формата на изпит – мениджърът да види какво знаят всички и дали разсъждават. Очакването на служителите е тип „заедно взимане на решение“, т.е. хем да ме питат, хем да се съобразят с някои от моите идеи.

6. Оценка на настоящото ръководство

66% от анкетираните посочват, че прекият им ръководител се доверява в голяма степен на подчинените си, а само двама от всички запитани отбелязват, че не им се доверяват изобщо.

44% от запитаните отговарят, че в известна степен имат възможности за инициативи

54% от анкетираните отговарят, че екипният подход е умерено развит.

Извод 6: Тези отговори красноречиво покриват и донякъде се свързват логично с изводите от предходния въпрос. По отношение на въпросите, свързани с оценката на настоящото ръководство, отговорите на анкетираните изразяват еднообразна тенденция. От една страна ръководствата залагат на подхода, в който решенията се взимат предимно на база обсъждане и съвместно с всички компетентни тези и служителите считат, че участват умерено в претеглянето на алтернативите, от друга страна обаче екипната работа не е толкова силно застъпена. Този отговор е доказателство за факта, че в крайна сметка решенията са повече свързани с последното решение, а то е на мениджъра, което означава, че екипа е малко включен със своите идеи. По-интересен е извода, че екипният подход е умерено развит, което означава, че неформалните връзки между мениджър и служители е слаб, а хората са затънали в професионални взаимоотношения, касаещи работни процеси и процедури. Доверието към хората от екипа е на база експертност и умения. Притеснителен е отговора, че екипният подход е умерено развит. Може да се допусне извода, че мениджърите не провеждат мотивационни срещи с колегите си за даване на обратна връзка, а се основават само на професионалните задачи. Желателно е за подобряване на екипния климат в здравните заведения да се провеждат по-често тимбилдинги и мотивационни срещи за даване на обратна връзка и по-ситуативен подход като отношение от страна на ръководителите към служителите. Твърде сериозното професионализиране „убива“ кретаивността и екипния дух.

II. Обобщен сравнителен анализ и препоръки

При сравнителен анализ на въпросите се забелязва, че почти няма разлика в отговорите на запитаните по отношение на характеристиката и представата им за мениджър и лидер. Това означава, че образа на лидера и мениджъра съвпадат според анкетираните. Фактът, че не се прави такава разлика би могло да означава, че очакването за добрия мениджър е той да бъде и добър лидер.

Също така се забелязва и взаимовръзката между факторите, които мотивират личността да извършва трудовите си задължения ефективно и проблемния аспект с липсата на екипен подход. Едва минимален процент от запитаните считат колективните мероприятия и организации с цел сплотяване на екипа за необходими в тяхната мотивация. Това навежда на мисълта, че голяма част от служителите в здравните заведения са по-скоро склонни да работят индивидуално и съответно ръководствата не взимат мерки за стимулиране на отборната работа и промяната на нагласите. Предвид конкурентната среда, бързо развиващите се технологии и сложността на проблемите екипната работа е утвърдена като често и значимо по-ефективния метод. Разбира се за целта е необходим добре функциониращ екип. За „добрия“ мениджър предимство би било да ръководи такъв екип и в този контекст препоръчително е да се доразвива екипният подход, за да може да се чувства служителите като част от цялото и екипите и различните отделения да могат да функционират качествено. За целта могат да се организират повече мероприятия за сплотяване на колектива. Добре би било в тази работна среда да се случват инициативи, планирани и реализирани от служителите, а мениджърите да присъстват като гости. Желателно е да се организират дни на отворените врати – всеки отдел, всяка структура в болницата да може да представи своята работа на останалите клиники по един забавен и разтоварващ начин. Да има по-добро междусекторно общуване и да се работи на проектен принцип вътре в колектива, като се залага на хоризонталните връзки и отношения. Мениджърите все по-често да информират служителите си, кои от взетите решения са дошли от тях и благодарение на тези решения какви подобрения са настъпили.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ – ИЗВОДИ И ПРЕПОРЪКИ

Ключова роля за управление на дейността в здравната организация има лидерството. По принцип здравният мениджър следва да се изявява и като ефективен лидер.

За да бъде едно здравно заведение успешно и развиващо се, то трябва да има ясна политика, точно поставени цели, точна стратегия за изпълнението им и ресурс за реализирането им.

Не съществува най-ефективен стил на ръководство, който да е валиден едновременно за всички ситуации или поне към настоящия момент не

могат с прецизност да бъдат обособени фактори, т.е ефективното ръководство трябва да се разглежда като съвкупност от ситуационни фактори. Най-добрият профил за мениджър в здравно заведение е ситуативният тип мениджър.

Мениджмънтът и правилните лидерските подходи са тези инструменти на организацията, с които се трупат активи, може да вземе преднина пред останалите здравни заведения и да повиши своята конкурентноспособност. Ето защо е не само важно какъв стил на управление ще избере и следва дадената здравна организация, а и как ще подбере, мотивира и ангажира служителите си, за да има както просперитет и успех лечебното заведение, така и удовлетвореност на персонала. Печелившите организации ще бъдат тези, в които висококвалифицираните и мотивирани служители ще са основна ценност. Желателно е да се създаде среда за обмен на идеи между служителите, където често да се организират креативни работни ателиета и те да могат да обменят идеи, а мениджърите да стимулират този процес. Също така добра практика би била и тази да има споделено учене на принципа „пиър ту пиър“ – по-опитните служители да имат възможност да помагат и учат по-неопитните.

За да бъде ефективно управлението на здравните организации трябва да има постоянно взаимодействие между всички фактори в непрекъснато променящата се среда. Добрият мениджър трябва да бъде и добър лидер, да съчетава множество качества и да балансира между изискванията на персонала и критериите за действаща организация. В конкретната ситуация да бъде подбран подходящия метод, да се стимулира екипната работа на всички нива и съвместното взимане на решения на база компетентност и възприемане на нови идеи.

В този контекст изниква необходимостта бъдещите здравни мениджъри да се обучават и в умения са ефективно лидерство.

Гъвкавостта и склонността към адекватни промени са един от най-ценните личностни черти на мениджъра.

Част от дипломна работа по Здравен мениджмънт
Рецензент: Проф. д-р Веселин Борисов, дмн
Катедра „Социална медицина и здравен мениджмънт“
Факултет по обществено здраве – Медицински университет – София

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисов, В; Здравен мениджмънт. Азбука на здравния мениджмънт. 2005 г.
2. Борисов, В; Стратегически здравен мениджмънт, философия и практика. Филвест, 2006 г.
3. Воденичаров, Ц; Седемте разлики между медика и мениджъра, София, 2006 г.
4. Воденичаров, Ц; Десетте принципа на медика и мениджъра, София, 2010 г.
5. Воденичаров, Ц., В. Борисов., Ст. Гладилов, К. Чамов, Д. Кръшков, Модел за ефективно развитие на българското здравеопазване. София , сп. Здравен мениджмънт 2005, бр. 2.
6. Дракър, П (2002). Ефективно управление. София: Класика и стил.
7. Van Velsor, E., Mc Cauley, C. D., Ruderman, M. N. (2010) Handbook of Leadership development, John Wiley and Sons, pp. xv.
8. Quinn, R. E, Faerman, S.R., Thompson, M.P., Mc Grath, M, M.R. (1990) – The Evolution of Management Models; A New Approach (ch.1) – In Becoming a Master Maneger: A Competency Framework. New York: John Wiley & Sons, pp 15–47.

Дата на постъпване: 25.04.2016 г.

