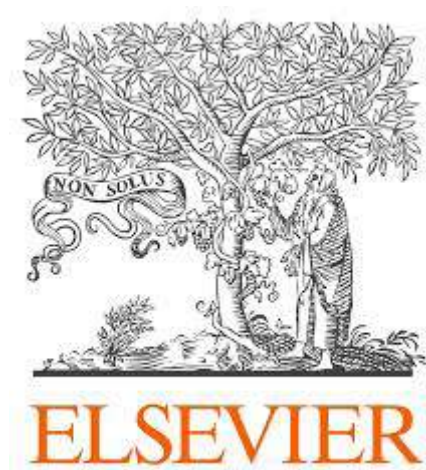


# BRITISH MEDICAL BULLETIN





# British Medical Bulletin

Issue 1 (2), December 2018

VOLUME 128

Oxford University Press  
2018

***British Medical Bulletin, Issue 1 (2), (December), Volume 128. Oxford University Press, 2018. - Pages 1-285.***

Proceedings of the Journal are located in the **Databases Scopus and Web of Science.**

Source Normalized Impact per Paper (SNIP): 1.563

SCImago Journal Rank (SJR): 1.377

Impact factor: 3.045

5-Yr impact factor: 4.341

©2016 Thomson Reuters, 2015 Journal Citation Report®

#### **EDITORIAL BOARD:**

EDITOR-IN-CHIEF

**Dr Norman J Vetter**

Retired: previously Reader in Department of Epidemiology, Cardiff University, UK

EDITORIAL OFFICE

**Shirley Letts**

#### EDITORIAL ADVISORY BOARD

**Professor D Coggon**

Environmental Epidemiology Unit, Southampton General Hospital, Southampton, UK

**Professor A-L Kinmonth**

General Practice and Primary Care Research Group, Institute of Public Health, Cambridge, UK

**Professor S K Smith**

Faculty of Medicine, Imperial College London, London, UK

**Mr G Watts**

Presenter in science broadcasting, BBC, London, UK

#### COMMISSIONING EDITORS

**Professor R Chadwick**

CESAGen, Cardiff University, UK

**Professor D Chamberlain**

Cardiff University, UK

**Professor C Cooper**

University of Southampton, UK

**Professor the Baroness I Finlay**

Velindre Hospital, Cardiff, UK

**Professor F Flinter**

Genetics Department, Guy's Hospital, UK

**Mr P J Foster**

Departments of Epidemiology and Glaucoma, Institute of Ophthalmology and Moorfields Eye Hospital, UK

**Professor A Freedman**

Cardiff University School of Medicine, UK

**Professor S Ghosh**

Imperial College Medical School, UK

**Professor S Griffiths**

The Chinese University of Hong Kong, , China

**Professor P J Guillou**

St James's University Hospital, Leeds, UK

**Dr S Hewlett**

Academic Rheumatology, Bristol Royal Infirmary, UK

**Professor P T Khaw**

Wound Healing Research Unit, Institute of Ophthalmology and Moorfields Eye Hospital, UK

**Professor S Krishna**

Division of Cellular and Molecular Medicine

Centre for Infection, St. George's, University of London, UK

**Professor N Lemoine**

Institute of Cancer, Cancer Research UK Clinical Centre, Barts and the London School of Medicine, UK

**Professor A Lever**

Department of Medicine, Addenbrooke's Hospital, UK

**Professor N Maffulli**

University of London, Barts and The London School of Medicine and Dentistry, UK

**Professor E Matutes**

The Institute of Cancer Research, UK

**Professor M Maze**

Chelsea and Westminster Hospital, London, UK

**Professor Julia Newton**

Faculty of Medical Sciences, Newcastle University, Newcastle

**Dr M O'Driscoll**

Genome Damage & Stability Centre, University of Sussex, UK

**Dr S Prasad**

National Heart and Lung Institute, Royal Brompton Hospital, London, UK

**Dr E Sim**

Department of Pharmacology, University of Oxford, UK

**Dr D Togerson**

Department of Economics and Related Studies,

The University of York, UK

**Professor S R Underwood**

Royal Brompton Hospital, London, UK

**Professor J Wass**

Oxford Centre for Diabetes, Endocrinology and Metabolism, The Churchill Hospital, Oxford, UK

**Professor M Whyte**

The University of Edinburgh, The Queen's Medical Research Institute, UK

**Dr P Wincour**

East and North Hertfordshire NHS Trust, UK

**Professor K J Wood**

John Radcliffe Hospital, Oxford, UK

**Professor P Woodruff**

Sheffield Cognition And Neuroimaging Laboratory (SCANLab),

The Longley Centre (Northern General Hospital), UK

**Professor Qingbo Xu**

Cardiovascular Division, King's BHF Centre, Kings College London, London, UK

## CONTENTS

<b>Demographic Profile of Travellers Seeking Reproductive Tourism Services</b> <i>Raywat Deonandan, Samantha DiRaimo.....</i>	<b>7</b>
<b>Urinary Abnormalities in Asymptomatic Children of Ho Chi Minh City: A Population-Based Study</b> <i>Le Nhu Nguyet Dang, Thi Le Binh Doan, Thi Kim Anh Pham, Thi Hong Phan, Mong Hiep Tran Thi, Francoise Janssen, Annie Roberts.....</i>	<b>16</b>
<b>A Case of Chronic Cough with Progressive Breathlessness in a 32 Year-old Male Health Worker - Tuberculosis?, Allergic Bronchitis?, Asthma?</b> <i>Gauri Billa, Karan Thakkar.....</i>	<b>30</b>
<b>Dexmedetomidine Ameliorates Histological and Neurological Outcomes after Transient Spinal Ischemia in Rats</b> <i>Toru Goyagi, Yoshitsugu Tobe.....</i>	<b>37</b>
<b>The Effects of Supervised Exercise Program on Health-Related Physical Fitness in Kuwait</b> <i>Fahad Al-Ghimlas, Kalaivane Subbramaniam, Osama Al-Owaish, Ma. Theresa Bilas, Kazem Behbehani.....</i>	<b>49</b>
<b>Role and Tasks of a Midwife in an Interdisciplinary Team That Takes Care of a Pregnant Patient with the Suspicion of Brain Death</b> <i>Aleksandra Bendowska, Katarzyna Beata Głodowska, Małgorzata Bendowska, Nina Kaczmarek, Michał Musielak.....</i>	<b>68</b>
<b>The Modeling Process of High Circulatory and Biochemical Regulations Regarding Absorbtion of Nutrients for Optimizing the Insulin Secretion</b> <i>Diana Loreta Păun, Silvia Chiotoroiu, Constantin Sorin Păun, Laurențiu Alexandru Chiotoroiu .....</i>	<b>79</b>
<b>Exosomes as Carriers Transporting Long Non-coding RNA - Molecular Characteristics and Prospects for the Future</b> <i>Damian Kolat, Raneem Hammouz, Andrzej K. Bednarek, Elzbieta Pluciennik.....</i>	<b>98</b>
<b>Clinical and Morphological Changes of Lymphatic Chanell at the Surgical Diseases of the Testicle in Children</b> <i>Volodymyr Baibakov .....</i>	<b>125</b>
<b>Surgical Tactics in Recurrent Inguinal Hernias at the Children</b> <i>Volodymyr Baibakov .....</i>	<b>134</b>
<b>Methylation of IFN<math>\gamma</math> Gene in Patients with Chronic Generalized Parodontitis on the Background of Metabolic Syndrome</b> <i>Oksana Denga, Tatiana Pyndus, Vladimir Bubnov .....</i>	<b>141</b>
<b>Risk Factors in Pathology in the Upper Part of Gastrointestinal Tract in Patients with Diabetes Mellitus Type 2</b> <i>Aleksey Shklyayev, Daniil Kazarin, Yurii Gorbunov.....</i>	<b>149</b>
<b>Analysis of the Domestic Market of Medicinal Drugs for the Use in the Second Phase of the Wound Healing</b> <i>Maiia Podorozhna, Ievgenii Gladukh, Nataliia Havrysh, Victoria Shmatenko.....</i>	<b>157</b>
<b>Morphological Differentiation of Etio-Pathogenetic Forms of Stomatogenic Maxillary Sinusitis</b> <i>S.D. Varzhapetian, A.G. Gulyuk, E.A. Grigorieva, T.V. Strogonova.....</i>	<b>168</b>

<b>Experimental Justification of a Choice of Method of Protection of the Receptor Apparatus of the Teeth, Which Are the Support of the Non-removable Design Denture</b> <i>I.V. Yanishen, I.L. Diudina, M.M. Biriukova, R.V. Kuznetsov, N.V. Krychka</i> .....	181
<b>Olfactory Assessment of Odor Samples of People with Diseases of Different Etiologies</b> <i>K.Yu. Zubrikova, A.V. Bedareva, N.A. Litvinova, L.V. Chernishova</i> .....	187
<b>Comparative Analysis of Epithelial-Stromal Relationships in the Endometrium in Cycles of <i>in vitro</i> Fertilization with Different Schemes of Luteal Phase Support</b> <i>Mykola Gryshchenko, Andrey Lutskiy, Olga Omelchenko</i> .....	198
<b>Need for the Use of Statines in Patients with Hypothyroidism: For and Against</b> <i>K.V. Vovk, E.Y. Nikolenko, O.V. Sokruto, O.A. Vlasenko, A.S. Kratenko, M.V. Martynenko, N.K. Alexandrova, L.V. Laricheva, V.P. Kanduba, I.V. Letik</i> .....	209
<b>HTA of Pharmacotherapy of Metastatic Prostate Cancer for Inclusion into the National List of the Essential Medicines</b> <i>Alla Nemchenko, Victoria Nazarkina, Maryna Podgaina, Olesya Nemchenko</i> .....	216
<b>Genetic Polymorphism Arg753gln of Tlr-2, Leu412phe of Tlr-3, Asp299gly of Tlr-4 in Patients with Influenza and Influenza-Associated Pneumonia</b> <i>N.O. Pryimenko, T.M. Kotelevska, G.M. Dubynska</i> .....	227
<b>Irritable Bowel Syndrome: The Possible Morphological Changes of the Mucosa of the Colon</b> <i>Alexey Shklyayev, Angelina Pantyukhina, Evgeniy Bazhenov</i> .....	239
<b>Morphometric Characteristic of Endometrium and Ovarium Rat in Experimental Modeling of Polycystic Ovary Syndrome of the Background of Constant Cold Exposure</b> <i>Iryna Kuzmina, Marina Zhulikova, Galina Bogok</i> .....	248
<b>The State Targets in the Islamic Republic of Iran, with Emphasis on Monotheistic Goals in Islam</b> <i>Hosein Aliahmadi Jeshfaghani</i> .....	256
<b>Morphofunctional State of Ovaries after Surgical Interventions for Tumoral Formations</b> <i>G.B. Beznoshchenko, E.N. Kravchenko, O.Yu. Tsygankova, K.P. Kropmaer, E.V. Kuz'menko, L.G. Makarkina</i> .....	272

## ***Methylation of IFN $\gamma$ Gene in Patients with Chronic Generalized Parodontitis on the Background of Metabolic Syndrome***

***Oksana Denga,***

*State Institution «The Institute of Stomatology  
and Maxillo-Facial Surgery NAMS of Ukraine»,*

***Tatiana Pyndus,***

*Lviv Medical Institute,*

***Vladimir Bubnov,***

*Odessa National Medical University*

### **ABSTRACT**

**Introduction.** Epigenetic regulation of the function of genes and genome is an important mechanism in the regulation of vital functions of cells and the body and is complicated by inflammation in parodontal tissues against the background of metabolic syndrome.

**Purpose of the study.** Study of methylation of IFN $\gamma$  gene promoter in chronic generalized parodontitis of different degree on the background of metabolic syndrome.

**Materials and methods.** In 21 patients, DNA was amplified in the blood and in the tissues of the gums. Pyrosequencing was carried out using PyroMark Gold Q24 Reagents on the PyroMark Q24, according to the Qiagen protocol. The content of methylated DNA in the sample was assessed using PyroMark CpG software 2.01.

**Results. Conclusions.** The decrease in the parodontal tissues of the methylation of the IFN $\gamma$  gene promoter on the background of the metabolic syndrome can be a marker of the activity of the chronic inflammatory process in the parodontium. The observed increase in IFN $\gamma$  gene expression in periodontal tissues on the background of the metabolic syndrome ultimately contributes to the progression of parodontitis and destruction of bone tissue.

**Keywords:** genes, methylation, chronic generalized parodontitis, metabolic syndrome.

## **Метилирование гена *IFN $\gamma$* у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на фоне метаболического синдрома**

**Оксана Деньга**, д. мед. н.,

Государственное учреждение «Институт стоматологии  
и челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины»,

**Татьяна Пиндус**, к. мед. н.,

Львовский медицинский институт,

**Владимир Бубнов**,

Одесский национальный медицинский университет

**Аннотация:** Показано, что снижение в тканях пародонта метилирования промотора гена *IFN $\gamma$*  на фоне метаболического синдрома у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом II-III степени, по сравнению с показателями у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом начальной - I степени, может быть маркером активности хронического воспалительного процесса в пародонте. Наблюдаемое повышение экспрессии гена *IFN $\gamma$*  в тканях пародонта при метаболическом синдроме, в конечном итоге, способствует прогрессированию пародонтита и разрушению костной ткани.

**Ключевые слова:** гены, метилирование, хронический генерализованный пародонтит, метаболический синдром.

Эпигенетическая регуляция функции генов и генома является важным механизмом в регуляции жизненно важных функций клетки, таких как пролиферация, дифференцировка, апоптоз, ответ на различные внешние и внутренние стимулы и т.д. Одним из эпигенетических механизмов регуляции функции генов является метилирование промотора или первого экзона, которое приводит к выключению гена и снижению или потере экспрессии. Изменение нуклеотида за счёт метилирования цитозина в последовательности CG приводит к изменению последовательности ДНК на TG и к не узнаванию специфической последовательности для связывания транскрипционных факторов при инициации тран-



скрипции. Механизм реализации может идти двумя путями. Первый — это блокирование присоединения факторов транскрипции к необходимому участку промотора гена и второй — связан с обнаружением метилированного цитозина метилсвязывающими белками семейства MBD и активацией гистондеацетилазы, приводящей к деацетилированию гистонов, упаковки ДНК в нуклеосомы и недоступности для факторов транскрипции [1]. Регуляция функции многих генов при воспалении также связана с метилированием (или деметилированием) их промоторов, в том числе и при пародонтите [2], которая еще более осложняется с присоединением дополнительных регуляторных путей, ассоциирующихся с провоспалительными цитокиновыми путями при таких заболеваниях, как метаболический синдром.

Основные механизмы, приводящие к развитию заболеваний пародонта, которые тесно связаны с динамикой иммунных и воспалительных реакций на патогенные микроорганизмы [3]. В ответ на микробную агрессию активированные Th1 лимфоциты синтезируют противовоспалительные цитокины, которые включают в себя *IFN $\gamma$*  (интерферон -гамма), интерлейкин-2. Экспрессия гена *IFN $\gamma$*  связана с воспалительными заболеваниями и тканей пародонта. Присутствие высоких концентраций *IFN $\gamma$*  связано с повышением фагоцитарной активности моноцитов и нейтрофилов, что способствует локализации инфекции, а также активирует моноцитарный ответ на LPS, что приводит к повышенной секреции провоспалительных молекул, таких как *PGE<sub>2</sub>*, IL-1 и TNF $\alpha$ , играющих важную роль в метаболизме костной ткани и поражении мягких тканей пародонта [3]. Эпигенетический контроль за экспрессией гена может осуществляться за счет метилирования промотора гена или первого экзона.

Принято считать, что повышенное метилирование (гиперметилирование) в промоторной области гена связано с уменьшением экспрессии этого гена, в то время как гипометилирование тесно связано с повышением её. Повышенная экспрессия *IFN $\gamma$*  может быть связана с гипометилированием промотора гена в ответ на микробную инвазию.

Целью данного исследования было изучение метилирования промотора гена *IFN $\gamma$* , связанного с воспалительным ответом на развитие инфекции в ротовой полости, для понимания связи между эпигенетической регуляцией экспрессии *IFN $\gamma$*  и различной степенью пародонтита, в том числе на фоне метаболического синдрома.

**Материалы и методы.** Ткани десны и кровь были взяты у 11 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) начальной - 1 степени (8 человек с диагнозом «метаболический синдром») и у 10 пациентов с ХГП 2-3 степени (6 человек с диагнозом «метаболический синдром»). Амплификацию ДНК проводили с помощью набора Qiagen в последовательности, приведенной в таблице 1.

Таблица 1

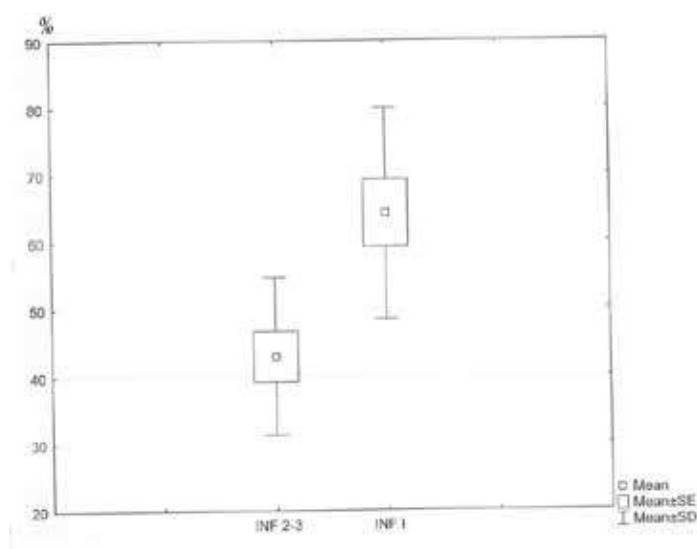
**Последовательность праймеров для амплификации и секвестирования промотора гена *IFN $\gamma$***

	Праймер	T°C
<i>IFN<math>\gamma</math></i>	<i>F-5' -[Biotin]</i> <i>TTTGTAAG GGTGGA GA GGTGTA GAA T-3'</i>	49
<i>IFN<math>\gamma</math></i>	<i>R-5' -CAAA CCCA TTГ TA CCCA CCTA TA CCA-3'</i>	
<i>IFN<math>\gamma</math></i>	<i>Seq- 5' TTTTA TA CCTCCCCA CTT-3'</i>	

Пиросеквенирование проводили с использованием наборов PyroMark Gold Q24 Reagents на приборе PyroMark Q24, согласно протокола Qiagen. Содержание метилированной ДНК в пробе оценивали с помощью программы PyroMark CpG software 2.01. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistics, versia 10.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Было проведено метилирование промотора гена *IFN $\gamma$*  в положении -295 и -171 от сайта старта транскрипции и проанализировано содержание метилированной ДНК в тканях десен пациентов в обеих группах.

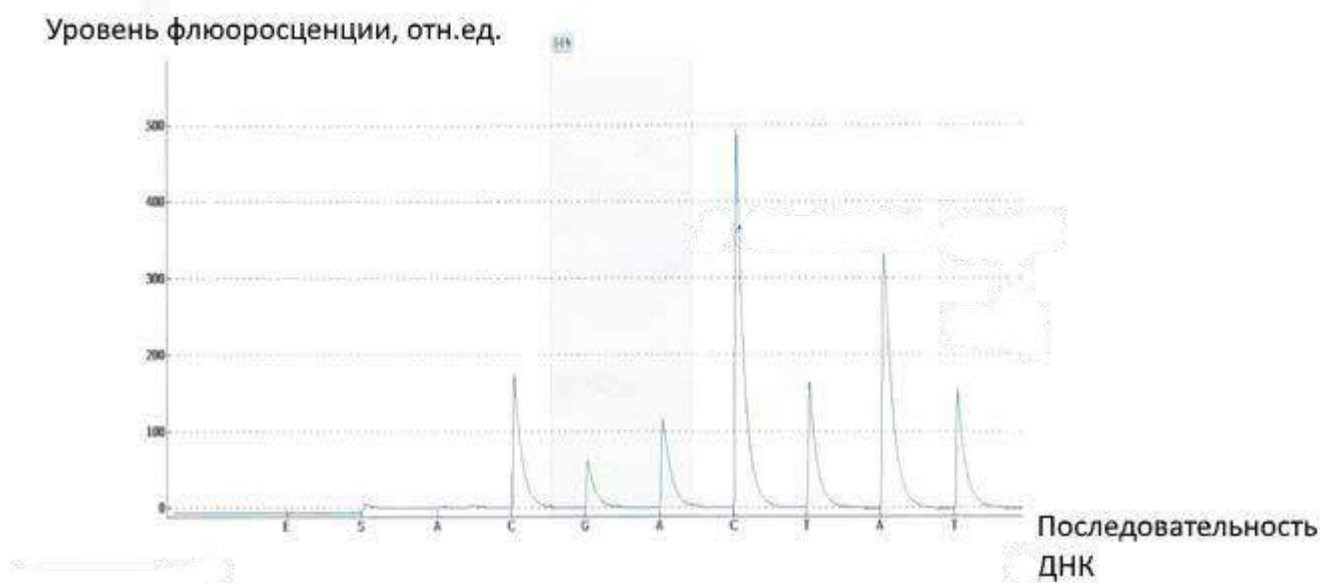
В первой группе пациентов с ХГП начальной - I степени содержание метилированной ДНК гена *IFN $\gamma$*  в образцах ткани десен составило  $64,2 \pm 5,7\%$ . Во второй группе пациентов с ХГП II-III степени было выявлено гипометилирование промотора гена *IFN $\gamma$* , составившее  $43,0 \pm 11,7\%$ , что было достоверно ниже, чем в первой группе. Достоверное снижение метилирования промотора гена *IFN $\gamma$*  в образцах ткани десен у больных с II-III степенью ХГП может служить маркером хронизации процесса (рис. 1).



**Рис. 1. Содержание в тканях десны метилированной ДНК гена  $IFN\gamma$  у пациентов с хроническим пародонтитом начальной - I степени и II-III степени на фоне метаболического синдрома**

$IFN\gamma$  является провоспалительным цитокином и участвует в ответе на антигенный микробный стимул, активируя макрофаги, моноциты и NK клетки, стимулируя образование оксида азота. Выброс  $IFN\gamma$  в очаге воспаления активированными лимфоцитами — это защитная реакция иммунной системы на патогенную флору и в острой фазе способствует её элиминации. Однако при хронизации воспалительного процесса и постоянном поддержании высокого уровня интерферона и других провоспалительных цитокинов ( $TNF\alpha$ ,  $IL1$ ) в очаге воспаления, может приводить к повреждению ткани пародонта активированными макрофагами, NK клетками, нейтрофилами и генерируемыми ими металлопротеиназами и перекисными радикалами.  $IFN\gamma$  может подавлять активность гена SIRT1, который является одним из главных регуляторов клеточного метаболизма и расхода энергии [4]. Кроме того  $IFN\gamma$  может опосредовать и противовоспалительное действие через активацию IL-1-рецептора антагониста ILRa и антагониста IL18-интерлейкин-связывающего протеина IL-18BP [5].

Пример пирограммы (результат секвенирования) содержания метилированной ДНК гена  $IFN\gamma$  у пациентов с MC показан на рисунке 2.



**Рис. 2. Пример пирограммы при количественном анализе содержания в десне пациентов с метаболическим синдромом метилированной ДНК гена *IFN-γ* при пиросеквенировании**

Результаты, полученные при анализе метилирования промотора гена *IFN-γ* в тканях пародонта и в крови больных с метаболическим синдромом в сравнении с пациентами без соматической патологии, представлены в таблице 2.

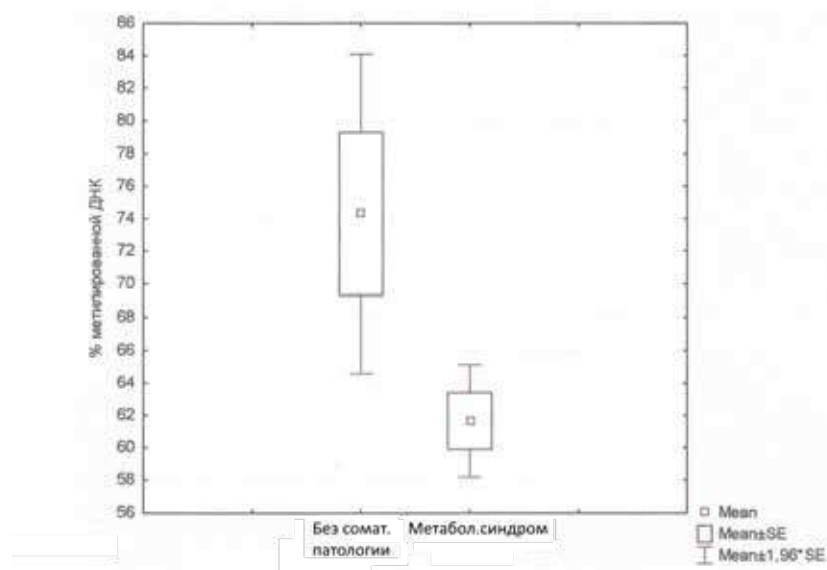
**Таблица 2.**

**Содержание метелированной ДНК гена *IFNγ* в тканях десны и крови у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом,  $M \pm m$ , %**

Диагноз Гены	Ткани пародонта		Кровь	
	Без соматической патологии (n=6)	Мет. синдром (n=14)	Без соматической патологии (n=6)	Мет. синдром (n=14)
<i>IFNγ</i> -171	78,3±3,2	62,1 ±4,1 p<0,005	62,4±5,1	62±6,5 p >0,1
<i>IFNγ</i> -295	79,3± 6,6	61,6±3,0 p<0,03	62,9±4,1	63,9± 8,2 p >0,1

Примечание: p — показатель достоверности отличий от группы пациентов без соматической патологии.

Как видно из таблицы 2, содержание метилированной ДНК *IFN $\gamma$*  в тканях пародонта у пациентов без соматической патологии выше чем у больных с метаболическим синдромом ( $p < 0,005$ ) (рис. 3).



**Рис. 3. Содержание метилированной ДНК гена *IFN $\gamma$*  в тканях пародонта у пациентов с ХГП без соматической патологии и пациентов с метаболическим синдромом**

Разница в крови между содержанием метилированной ДНК гена *IFN $\gamma$*  у пациентов с ХГП и пациентов с ХГП на фоне МС была недостоверна ( $p > 0,1$ ). Различие между содержанием метилированной ДНК гена *IFN $\gamma$*  в десне у пациентов с ХГП и пациентов с ХГП на фоне МС можно объяснить тем, что ротовая полость представляет собой более агрессивную среду, чем кровь, и процессы воспаления в ней протекают интенсивнее.

### **Выводы.**

Снижение у пациентов с ХГП II-III степени в тканях пародонта метилирования промотора гена *IFN $\gamma$*  на фоне МС, по сравнению с показателями у пациентов с ХГП начальной - I степени, может быть маркером активности хронического воспалительного процесса в пародонте.

Повышение экспрессии гена *IFN $\gamma$*  в тканях пародонта в конечном итоге способствует прогрессированию пародонтита и разрушению костной ткани, особенно на фоне МС.

Отсутствие достоверного отличия в содержании метилированной ДНК *IFN $\gamma$*  в крови у пациентов с ХГП на фоне МС и с ХГП без соматической патоло-

гии можно объяснить тем, что в крови, процессы связанные с воспалением, протекают менее агрессивно, чем в ротовой полости, где существенное негативное влияние на них оказывает микрофлора.

#### References:

1. Yannick Delpu. DNA Méthylation and Cancer Diagnosis // Int. J. Mol. Sci. 2013, 14, 15029-15058; doi: 10.3390/ijms 140715029.
2. Ana Paula De Souza. High-throughput DNA analysis shows the importance of méthylation in the control of immune inflammatory gene transcription in chronic periodontitis. Clinical Eigenetics; 2014, 6:15.
3. Gemmell E., Seymour G.J. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. Periodontology 2000. 2004;35:21-41.
4. Ping Li, Yuhao Zhao, Xiaoyan Wu [and al]. Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) disrupts energy expenditure and metabolic homeostasis by suppressing SIRT1 transcription. Nucleic Acids Res. 2012 Feb; 40(4):1609-1620.
5. Garlet T.P., Coelho U., Repeke C.E., Silva J.S., Cunha F.Q., Garlet G.P. Differential expression of osteoblast and osteoclast chemmoattractants in compression and tension sides during orthodontic movement. Cytokine. 2008;42:330-335.
6. Gamonal J., Sanz M., O'Connor A., Acevedo A., Suarez I., Sanz A, et al. Delayed neutrophil apoptosis in chronic periodontitis patients. J Clin Periodontol. 2003;30:616-623.
7. Nora SILVA, Loreto ABUSLEME, Denisse BRAVO, Nicolas DUTZAN et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. J.Appl.Oral Sci. vol.23 no.3 Bauru May/June 2015.