



ISSN: 2663-5909 (print)
2664-4231 (online)



Міністерство освіти і науки України
The Ministry of Education and Science of Ukraine

EASTERN UKRAINIAN MEDICAL JOURNAL

СХІДНОУКРАЇНСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Том 9 № 4' 2021
Vol. 9 Iss. 4' 2021

Заснований у 1994 році
Founded in 1994

Суми, Сумський державний університет
Sumy, Sumy State University

З 17.11.2018 р. відбулась офіційна зміна назви видання з «Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень» на «Eastern Ukrainian Medical Journal»

Журнал публікує статті, які розглядають актуальні питання клінічних та експериментальних медичних досліджень, випадки з медичної практики та огляд літератури, підготовлені професорсько-викладацьким складом, аспірантами, здобувачами університету та інших ВНЗ, а також вченими та спеціалістами інших наукових установ України та за її межами.

Для викладачів ВНЗ, наукових працівників, аспірантів.

Рекомендовано до друку вченою
радою Сумського державного
університету протокол № 16 від
24.06.2021 р.

Адреса редакційної колегії:

вул. Р.-Корсакова, 2, м. Суми,
Україна 40007

The address of the editorial board:

2 R.-Korsakova St., Sumy 40007
Ukraine

Tel. (0542) 662-318
e-mail: eumj@med.sumdu.edu.ua
<http://eumj.med.sumdu.edu.ua>

Свідоцтво про реєстрацію
КВ № 19908-9708 ПР від 04.03.2013 р.

Президією ВАК України (наказ № 455
від 15 квітня 2014 р.) журнал зареєстровано
як наукове видання з медичних наук

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Головний редактор

Сміян О. І. (Сумський державний університет, Суми, Україна);

e-mail: o.smiyan@med.sumdu.edu.ua

Науковий консультант

Зімба О. О. (Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна);

Редактор з питань наукової сумлінності

Бергілевич О. М. (Сумський державний університет, Суми, Україна);

e-mail: o.bergylevych@med.sumdu.edu.ua

Відповідальний редактор

Васильєва О. Г. (Сумський державний університет, Суми, Україна);

e-mail: ol.vasilyeva@med.sumdu.edu.ua

Редактор з питань розповсюдження в соціальних мережах

Чудаєва Ю. С. (Сумський державний університет, Суми, Україна);

Редактор англomовного контенту

Алексахіна Т. О. (Сумський державний університет, Суми, Україна);

Редактор з питань статистики

Васильєв Ю. К. (Сумський державний університет, Суми, Україна);

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Smiyan O. I. (Sumy State University, Sumy, Ukraine);

e-mail: o.smiyan@med.sumdu.edu.ua

Scientific Consultant

Zimba O. O. (Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine);

Research Integrity Editor

Berhilevych O. M. (Sumy State University, Sumy, Ukraine);

e-mail: o.bergylevych@med.sumdu.edu.ua

Managing Editor

Vasiliyeva O. G. (Sumy State University, Sumy, Ukraine);

e-mail: ol.vasilyeva@med.sumdu.edu.ua

Social Media Editor

Chudaieva Yu. S. (Sumy State University, Sumy, Ukraine);

English Language Editor

Aleksakhina T. O. (Sumy State University, Sumy, Ukraine);

Statistics Editor

Vasiliyev Yu. K. (Sumy State University, Sumy, Ukraine);

Атаман О. В. - д-р мед. наук, професор,
Сумський державний університет, Суми,
Україна;

Винниченко І. О. - канд. мед. наук,
Сумський обласний клінічний
онкологічний диспансер, Сумський
державний університет, Суми, Україна;

Волосовець О. П. - д-р мед. наук,
професор, чл.-кор. НАН України,
Національний медичний університет імені
О. О. Богомольця, Київ, Україна;

Каргіна К. - кандидат наук, кафедра
громадського здоров'я та клінічної
медицини, Університет Умео, Швеція;

Лобода А. М. - д-р мед. наук, доцент,
Сумський державний університет, Суми,
Україна;

Мошчич О. П. - д-р мед. наук, професор,
Національна медична академія
післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м.
Київ, Україна;

Плудовський П. - канд. мед. наук, доцент,
відділ біохімії, радіоімунології та
експериментальної медицини Дитячого
меморіального інституту здоров'я,
Варшава, Польща;

Погорєлов М. В. - д-р мед. наук, доцент,
Сумський державний університет, Суми,
Україна;

Резніченко Ю. Г. - д-р мед. наук,
професор, Запорізький державний
медичний університет, Запоріжжя,
Україна;

Ataman O. V. – Doctor of Medical Sciences
(D.M.S), Professor, Sumy State University,
Sumy, Ukraine;

Vynnychenko I. O. - Doctor of Medical
Sciences (D.M.S), Professor, Sumy Regional
Oncology Center, Sumy State University,
Sumy, Ukraine.

Volosovets O. P. - Doctor of Medical
Sciences (D.M.S), Professor, Corresponding
Member of the NAS of Ukraine, Bogomolets
National Medical University, Kyiv, Ukraine;

Karhina K. - PhD in Public Health,
Department of Public Health and Clinical
Medicine, Umea University, Sweden;

Loboda A. M. - Doctor of Medical Sciences
(D.M.S), Associate Professor, Sumy State
University, Sumy, Ukraine;

Moshchych O. P. - M.D., Ph.D., D.M.Sc.,
Prof., Department of Pediatric
Otolaryngology, Shupyk National Healthcare
University of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

Pludowski P. - Assoc. Prof., Department of
Biochemistry, Radioimmunology and
Experimental Medicine, Children's
Memorial Health Institute, Warsaw,
Poland;

Pogorelov M. V. - Doctor of Medical
Sciences (D.M.S), Associate Professor, Sumy
State University, Ukraine;

Reznychenko Yu. H. - Doctor of Medical
Sciences (D.M.S), Professor, Zaporizhzhia
State Medical University, Zaporizhzhia,
Ukraine;

Романюк А. М. - д-р мед. наук, професор, Сумський державний університет, Суми, Україна;

Сінгер Б. Б. - канд. мед. наук, Інститут анатомії Університету Дуйсбург-Ессена, Німеччина;

Сміянов В. А. - д-р мед. наук, Сумський державний університет, Суми, Україна;

Сміян С. І. - д-р мед. наук, професор, Тернопільський медичний університет, Тернопіль, Україна;

Средкова М. П. - д-р мед. наук, професор, Медичний університет, м. Плевен, Болгарія;

Стефан П. - д-р філософії, професор, директор інституту гістології та ембріології, медичний факультет, Університет ім. Коменського, м. Братислава, Словачія;

Усоніс В. - д-р мед. наук, професор, Клініка дитячих хвороб, медичний факультет, Вільнюський університет, Вільнюс, Латвія;

Фал А. М. - д-р мед. наук, професор, відділ алергії, легеневих захворювань та внутрішньої медицини Центральної клінічної лікарні МВС, Варшава, Польща;

Циркунов В. М. - д-р мед. наук, професор, Гродненський державний медичний університет, Гродно, Білорусь

Romaniuk A. M. - Doctor of Medical Sciences (D.M.S), Professor, Sumy State University, Sumy, Ukraine;

Singer B. B. – PhD in Medical Sciences, University Duisburg-Essen, Institute of Anatomy, Essen, Germany;

Smijanov V. A. - Doctor of Medical Sciences (D.M.S), Professor, Sumy State University, Sumy, Ukraine;

Smijan S. I. - Doctor of Medical Sciences (D.M.S), Professor, Ternopil Medical University, Ternopil, Ukraine;

Sredkova M. P. – Doctor of Medical Sciences (D.M.S), Professor, Pleven Medical University, Pleven, Bulgaria;

Stefan P. - M.D., PhD, Professor, Head of Institute of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, Slovakia;

Usonis V. - Doctor of Medical Sciences (D.M.S), Professor, Clinic of Children Diseases, Faculty of Medicine, Vilnius University, Vilnius, Lithuania;

Fal A. M. - Doctor of Medical Sciences (D.M.S), Professor, Department of Allergy, Lung Diseases and Internal Medicine, Central Clinical Hospital of Ministry of Interior, Warszawa, Poland;

Tsyrkunov V. M. - Doctor of Medical Sciences (D.M.S), Professor, Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

CLINICAL MEDICINE

Євгеній І. Слинько, Олександр О. Потапов, Юрій В. Деркач	310	Yevgeniy I. Slynko, Olexandr O. Potapov, Yuriy V. Derkach
РЕЗУЛЬТАТИ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ ЗІ ВТОРИННИМИ УРАЖЕННЯМИ ХРЕБЦІВ		THE RESULTS OF SURGICAL TREATMENT IN PATIENTS WITH VERTEBRAL METASTASES
Олександр О. Потапов, Олексій П. Кмита, Олександр О. Циндренко, Марина В. Павлова, Дмитро А. Запорожець	318	Oleksandr O. Potapov, Oleksiy P. Kmyta, Olexandr O. Tsyndrenko, Maryna V. Pavlova, Dmytro A. Zaporozhets
КОМПЛЕКСНЕ ЛІКУВАННЯ ДИСКОПАТІЙ ПОПЕРЕКОВОГО ВІДДІЛУ ХРЕБТА		COMPREHENSIVE TREATMENT OF DISCOPATHIES OF THE LUMBAR SPINE
Сергій В. Попов, Олександр І. Сміян, Олена Г. Васильєва, Людмила А. Юсюк, Анастасія О. Профатило, Тетяна В. Романенко, Дмитро А. Говорун	325	Serhiy V. Popov, Olexandr I. Smiyan, Olena H. Vasylieva, Liudmyla A. Iusiuk, Anastasiia O. Profatylo, Tetyana V. Romanenko, Dmytro A. Govorun
АНТИБІОТИК-АСОЦІЙОВАНІ ЗМІНИ КРОВІ У НОВОНАРОДЖЕНИХ		ANTIBIOTIC-ASSOCIATED BLOOD CHANGES IN NEWBORNS
Вікторія М. Голубнича, Вікторія В. Корнієнко, Євгенія В. Гусак, Вікторія О. Федоренко, Олеся І. Тверезовська, Тетяна В. Івахнюк, Юлія В. Варава	332	Viktoriia M. Holubnych, Viktoriia V. Korniienko, Yevheniia V. Husak, Viktoriia O. Fedorenko, Olesia I. Tverezovska, Tetiana V. Ivakhniuk, Yuliia V. Varava
АНТИБАКТЕРІАЛЬНИЙ ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА НА ПОЛІРЕЗИСТЕНТНІ КЛІНІЧНІ ШТАМИ K. PNEUMONIAE		ANTIBACTERIAL INFLUENCE OF SILVER NANOPARTICLES ON MULTI-RESISTANT STRAINS OF K. PNEUMONIAE ISOLATED AT HOSPITALS
Наталія Л. Циндренко, Анатолій М. Романюк, Яна Р. Ніколаснко	342	Nataliia L. Tsyndrenko, Anatolii M. Romaniuk, Yana R. Nikolayenko
КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНА ТА ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ У СУМСЬКОМУ РЕГІОНІ		CLINICAL, MORPHOLOGICAL, AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ENDOMETRIAL HYPERPLASTIC PROCESSES IN SUMY REGION
Оксана М. Герасимова, Володимир М. Савво	352	Oksana M. Herasymova, Volodymyr M. Savvo
PERINATAL AND HEREDITARY RISK FACTORS OF HEART RATE AND CONDUCTION DISORDERS IN CHILDREN WITH GASTROESOPHAGEAL REFLUX		PERINATAL AND HEREDITARY RISK FACTORS OF HEART RATE AND CONDUCTION DISORDERS IN CHILDREN WITH GASTROESOPHAGEAL REFLUX

Василь Б. Кушнір	362	Vasyl B. Kushnir
ПОКАЗНИКИ КЛІНІКО-РЕНТГЕНОЛОГІЧНОГО ТА ЛАБОРАТОРНОГО СТАТУСУ У ХВОРИХ ЧОЛОВІЧОЇ СТАТІ З ВПЕРШЕ ВИЯВЛЕНИМ ІНФІЛЬТРАТИВНИМ ТУБЕРКУЛЬОЗОМ ЛЕГЕНЬ		INDICATORS OF CLINICAL, RADIOLOGICAL, AND LABORATORY STATUS IN MALE PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED INFILTRATIVE PULMONARY TUBERCULOSIS
Галина В. Кулініч, Ельвіра Б. Прохорова, Федір В. Гладких	373	Halyna V. Kulinich, Elvira B. Prohorova, Fedir V. Hladkykh
ХАРАКТЕРИСТИКА ЕЛЕКТРОПРОВІДНОСТІ ШКІРНИХ ПОКРИВІВ У ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ З ПІДВИЩЕНИМ РИЗИКОМ УСКЛАДНЕНЬ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ		CHARACTERISTICS OF SKIN ELECTRICAL CONDUCTANCE IN PATIENTS WITH BREAST CANCER AND HIGH RISK OF RADIATION THERAPY-RELATED COMPLICATIONS
Тетяна В. Дерев'янка, Майя М. Ананьєва, Марія О. Фаустова	382	Tatiana V. Derevianko, Maiia M. Ananieva, Mariia O. Faustova
ВПЛИВ САНГВІРІТРИНУ НА ФАКТОРИ ПАТОГЕННОСТІ МЕТИЦИЛІН-РЕЗИСТЕНТНОГО STAPHYLOCOCCUS AUREUS		THE EFFECT OF SANGUIRITRINUM ON THE PATHOGENICITY FACTORS OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS
Мар'яна В. Максим'як, Леся М. Солтисік, Анна І. Овчар, Валерій А. Левченко	391	Mariana V. Maksymyak, Lesia M. Soltysik, Anna I. Ovchar, Valeriy A. Levchenko
ПСИХО-ВЕГЕТАТИВНИЙ «ХАОС», ЯК ДИСБАЛАНС ГОМЕОСТАТИЧНИХ СИСТЕМ У СТУДЕНТІВ МОЛОДШИХ КУРСІВ: СПОСОБИ ЙОГО РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ		PSYCHO-VEGETATIVE "CHAOS" AS AN IMBALANCE OF HOMEOSTATIC SYSTEMS IN STUDENTS: METHODS OF ITS EARLY DIAGNOSIS
Андрій В. Курочкін, Юлія В. Москаленко, Роман А. Москаленко, Олександр В. Кравець, Віталій В. Кузьменко	401	Andrii V. Kurochkin, Yulia V. Moskalenko, Roman A. Moskalenko, Oleksandr V. Kravets, Vitalii V. Kuzmenko
ВИЯВЛЕННЯ СТОРОЖОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ТОЛУЇДИНОВОГО СИНЬОГО		DETECTION OF SENTINEL LYMPH NODES IN PATIENTS WITH THYROID CANCER WITH THE USE OF TOLUIDINE BLUE
Анатолій Б. Сухарєв, Тетяна В. Копиця, Володимир І. Бойко	410	Anatoliy B. Sukharev, Tetiana V. Kopytsia, Volodymyr I. Boyko
ОСОБЛИВОСТІ ГОРМОНАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ У ЖІНОК З ДЕФІЦИТОМ МАСИ ТІЛА		PECULIARITIES OF HORMONAL HOMEOSTASIS IN WOMEN WITH DEFICIENT BODY WEIGHT
Ольга І. Залюбовська, Валерія В. Грищенко	416	Olha I. Zalyubovska, Valeriya V. Hryshchenko
АНАЛІЗ СТАНУ АГРЕГАЦІЇ ТРОМБОЦИТІВ ВАГІТНИХ ІЗ ТРОМБОФІЛІЯМИ ТА ОБТЯЖЕНИМ АКУШЕРСЬКИМ АНАМНЕЗОМ		ANALYSIS OF THE STATE OF PLATELET AGGREGATION IN PREGNANT WOMEN WITH THROMBOPHILIA AND BURDENED OBSTETRIC HISTORY

Оксана С. Хухліна, Зоряна Я. Коцюбійчук, Альона А. Антонів	423	Oksana S. Khukhlina, Zoriana Ya. Kotsyubiychuk, Aliona A. Antoniv
ІНТЕНСИВНІСТЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ЯК УНІВЕРСАЛЬНОГО МЕХАНІЗМУ ПОШКОДЖЕННЯ ТКАНИН ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОГЕПАТИТІ ТА ДІАБЕТИЧНІЙ ХВОРОБИ НИРОК У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІБЕТ ТИПУ 2. ЕФЕКТИВНІСТЬ КОРЕКЦІЇ КВЕРЦЕТИНОМ		INTENSITY OF OXIDATIVE STRESS AS A UNIVERSAL MECHANISM OF TISSUE DAMAGE IN NONALCOHOLIC STEATOLIVER DISEASE AND DIABETIC KIDNEY DISEASE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS. QUERCETIN CORRECTION EFFECTIVENESS
Зоряна Я. Коцюбійчук, Оксана С. Хухліна, Альона А. Антонів, Олександра І. Рощук, Ольга Є. Мандрик, Олександра В. Гарвасюк	432	Zoriana Ya. Kotsiubiichuk, Oksana S. Khukhlina, Aliona A. Antoniv, Oleksandra I. Roshchuk, Olga Ye. Mandryk, Oleksandra V. Garvasiuk
ВПЛИВ БІЦИКЛОЛУ НА СТАН СПОЛУЧНОТКАНИННИХ КОМПОНЕНТІВ ПОЗАКЛІТИННОГО МАТРИКСУ ПЕЧІНКИ У КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ НЕАЛКОГОЛЬНОГО STEATOLIVER DISEASE З ФІБРОЗОМ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ТИПУ 2		THE EFFECT OF BICYCLOL ON THE STATE OF THE CONNECTIVE TISSUE COMPONENTS OF THE LIVER EXTRACELLULAR MATRIX IN THE COMPLEX THERAPY OF NON-ALCOHOLIC STEATOLIVER DISEASE WITH LIVER FIBROSIS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Abstract

Yevgeniy I. Slynko¹,
Olexandr O. Potapov²,
Yuriy V. Derkach¹,

¹Department of Spinal Neurosurgery, Romodanov Neurosurgery Institute, Kyiv, Ukraine;

²Department of Neurosurgery and Neurology, Medical Institute, Sumy State University, Sumy, Ukraine

THE RESULTS OF SURGICAL TREATMENT IN PATIENTS WITH VERTEBRAL METASTASES

Study Objectives. The study was conducted to analyze and compare different types of surgical access in the treatment of patients with metastatic vertebral lesions to improve the outcome of surgery.

Materials and Methods. The study included 108 patients with vertebral metastases who were operated on at the Romodanov Neurosurgery Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine in 2015–2019.

Results. The choice of surgical access depended on a few factors such as tumor location relative to the dura mater, bones, and nerve structures and was as follows: posterior access was used to resect tumors located posteriorly and posterolaterally to the brain; lateral access was used for tumors located laterally to the brain; anterior access was used to resect tumors located in front of the spinal cord.

In Group I (73 patients), posterior access was used in 49 cases (67%), anterior access – in 19 cases (26%), and lateral access – in 5 cases (7%). In Group II (35 patients), only posterior access was used.

Discussion. Selection of adequate surgical access for vertebral tumor resection in order to minimize nerve structure injury significantly improved the results of surgical treatment. Anterior and lateral access for ventral and ventrolateral tumors operation made it possible to completely resect the tumor, reduce the traction of nerve structures, and obtain sufficient visual control of the operating field during the surgery, which in turn had a positive effect on regression of pain and conduction disorders.

Conclusions. A differential approach to the choice of surgical access reduces the neurological deficit in the postoperative period and allows radical resection of the tumor, which in turn helps to significantly reduce the number of tumor recurrences in the long-term period.

Keywords: vertebral tumor resection, features of surgical treatment of vertebral tumors, secondary vertebral lesions.

Corresponding author:

Yuriy V. Derkach, Department of Spinal Neurosurgery, Romodanov Neurosurgery Institute, Kyiv, Ukraine
e-mail: 290986@ukr.net

Резюме

Євгеній І. Слинько¹,
Олександр О. Потапов²,
Юрій В. Деркач¹,

¹Відділення патології спинного мозку, Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України, м. Київ, Україна;
²Кафедра нейрохірургії та неврології медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, Україна

РЕЗУЛЬТАТИ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ ЗІ ВТОРИННИМИ УРАЖЕННЯМИ ХРЕБЦІВ

Матеріали та методи. В дослідження включено 108 пацієнтів із метастазами в хребті, які отримували хірургічне лікування в Інституті нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України в період з 2015 року по 2019 роки.

Результати. Вибір хірургічного доступу залежав від таких факторів: розташування пухлини відносно твердої мозкової оболонки і нервових структур, кісток та був такий: задній доступ використовували для видалення пухлин, які займають задній та задньо-боковий простір по відношенню до мозку; боковий доступ ми використовували для видалення пухлин розташованих латерально від мозку; передній доступ ми використовували для видалення пухлин, розташованих спереду від спинного мозку.

В I групі спостережень ми використовували задні доступи в 49 спостереженнях, передні доступи – в 19 спостереженнях, бокові доступи – в 5 спостереженнях. В II групі спостережень використовували лише задні групи доступів.

Обговорення. Вибір адекватного хірургічного доступу до пухлини хребців, який мінімізує травму нервових структур під час видалення пухлини, значно покращує результати хірургічного лікування. Використання передніх та бокових доступів при вентральних, вентролатеральних локалізація пухлин дає змогу тотально видалити пухлину, зменшити тракцію нервових структур та отримати достатній візуальний контроль операційного поля під час видалення пухлини, що в свою чергу позитивно впливає на регрес больового синдрому та провідникових порушень.

Висновки. Диференційний підхід до вибору доступу для видалення пухлини зменшує неврологічний дефіцит в післяопераційному періоді, дає змогу максимально радикально видалити пухлину, що дозволяє у віддаленому періоді значно зменшити кількість рецидивів пухлин.

Ключові слова: видалення пухлин хребців; особливості хірургічного пухлин хребців; вторинне ураження хребців.

Автор, відповідальний за листування:

Юрій В. Деркач, відділення патології спинного мозку, Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова, м. Київ, Україна
e-mail: 290986@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Slynko YeI, Potapov OO, Derkach YuV. The results of surgical treatment in patients with vertebral metastases. *EUMJ*. 2021;9(4):310-317

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):310-317](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):310-317)

Introduction/Вступ

Vertebral metastases are the most common type of secondary involvement of the vertebral spine with a prevalence of 30–70% in cancer patients; in 5–10% of cases, metastases cause epidural compression of the spinal cord, leading to conduction disorders, pain, and reduced quality of life [1].

In order to relieve pain and improve spinal cord function and the quality of life of patients, surgery is increasingly performed, including minimally invasive surgery, palliative surgery, or radical surgery. In turn, most studies report a significant clinical effect with carefully selected surgical methods in patients with vertebral metastases [2]. Flavio Tancioni et al. used minimally invasive surgery, resulting in clinical remission of pain (in

96% of cases) and improvement of neurological deficit after 2 weeks (in 88% of cases) [3]. Masuda et al. evaluated the surgical outcomes of 44 patients who underwent spinal cord decompression and spine stabilization and reported that all patients presented with improved scores by the Frankel Scale and ECOG Scale of Performance Status after surgery [4].

However, there are still some issues in the treatment of spinal metastases. Complications such as perioperative bleeding and spinal cord injury should be considered after surgery. Along with the rapid development of immunotherapy, endocrine therapy, radiation therapy, and chemotherapy (especially targeted therapy), multidisciplinary combination treatment in patients with malignant vertebral tumors has become a trend [5]. Therefore, the indications and contraindications for the surgical treatment of spinal metastases should be clearly understood.

Accordingly, this study was conducted to analyze and compare different types of surgical access in the treatment of patients with metastatic vertebral lesions to improve the outcome of surgery.

Materials and methods

The study included 108 patients with malignant vertebral tumors who were operated on at the Romodanov Neurosurgery Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine in the period from 2015 till 2019. The inclusion criteria were as follows: patients diagnosed with spinal metastases using clinical and instrumental examinations (CT, MRI, or PET-CT); patients with hematologic malignancies of the spine, including lymphoma and myeloma; patients with spinal cord disorders, such as primary spinal tumors, spinal tuberculosis or degenerative spine conditions.

Among the patients included in this study, Group I comprised 42 men (55.4%) and 36 women (44.6%). Group II included 16 men (53.3%) and 14 women (46.6%).

Neurological deficits were evaluated using parameters of pain syndrome and conduction disorders before and after surgery.

Pain syndrome was assessed according to a 5-point scale (0 – no pain, 5 – the maximum level of pain). Motor and sensory functions were assessed using the Frankel scale.

To objectify the degree of spinal cord compression, the epidural spinal cord compression scale (ESCC, 2011) was used, which was based on the assessment of axial T2-weighted MRI images of

the most severe compression site. This classification includes 4 stages: stage 1 – no compression of the spinal cord; stage 2 falls into: 2a – involvement of the epidural space without deformation of the dural sac, 2b – involvement of the epidural space with deformation of the dural sac and no signs of spinal cord compression, 2c – deformation of the dural sac with signs of spinal cord compression; stage 3 – spinal cord compression with intact extra-axial fluid spaces; stage 4 – spinal cord compression with affected extra-axial fluid spaces.

In order to resect the tumor completely, patients underwent radical surgery, including total or partial vertebrectomy, with subsequent stabilization of the spine, if necessary.

All observations were divided into two groups. In Group I (73 observations), a differential approach to the choice of surgical access was used depending on the direction of vertebral tumor growth and epidural component. In group II (35 observations), the posterior access was exclusively used to resect vertebral tumors.

The minimum post-surgery follow-up duration was 2 weeks, the maximum – 72 months. The duration of the post-surgery follow-up period averaged 24.4 ± 1.2 months.

Results

In Group I, thoracic spine was most commonly involved – 22 observations (30%); lumbar spine was involved in 20 cases (27.5%), cervical spine – in 18 cases (24.7%), and sacral spine – in 13 cases (17.8%). Tumors affecting more than two parts of the spine were observed in 6 cases. At the same time, 14 patients with only one affected part of the spine had more than one vertebra involved (Fig. 1).

In Group II, cases with regard to involved part of the spine were distributed as follows: cervical spine – 11 observations (31%), thoracic spine – 12 observations (33.9%), lumbar spine – 7 observations (20%). In 5 cases (15.1%), vertebral tumors affected two or more parts of the spine (Fig. 1).

The primary tumor sites in Group I were: renal cancer – 21 cases (28.8%), prostate cancer – 17 cases (23.3%), lymphoma and multiple myeloma – 10 cases (13.7%), lung cancer – 10 cases (13.7%), metastases of mesenchymal sarcoma – 5 cases (6.9%), thyroid cancer – 4 cases (5.5%), liver cancer – 2 cases (2.7%), gastrointestinal cancer – 2 cases (2.7%), unknown primary site – 2 cases (2.7%) (Fig. 2).

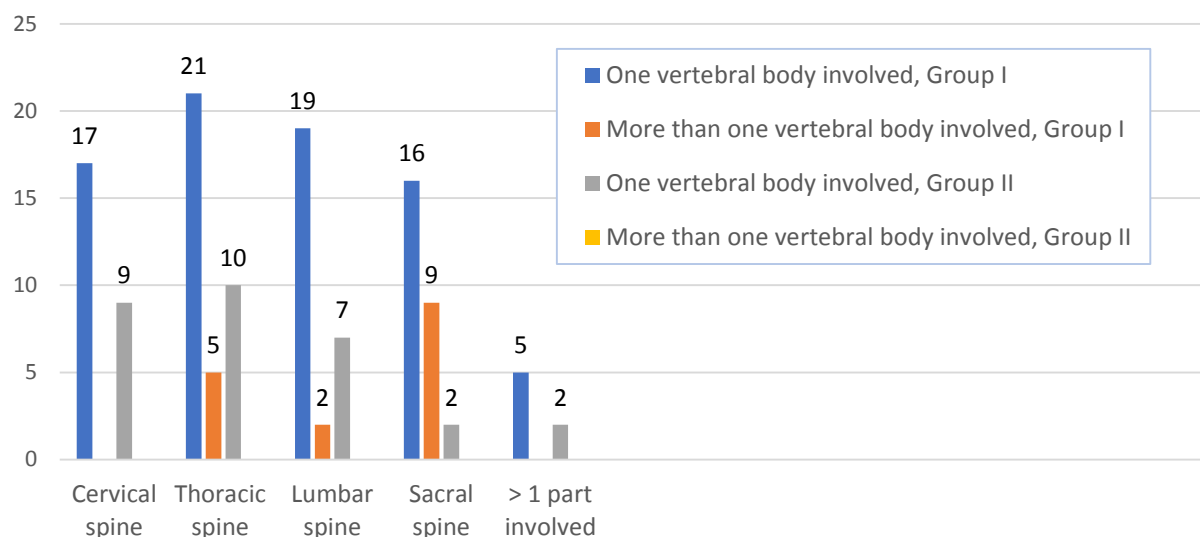


Figure 1 – Distribution of cases with regard to the involved part of the spine

The primary tumor sites in Group II were: renal cancer – 12 cases (34.2%), prostate cancer – 9 cases (25.7%), lymphoma and multiple myeloma – 5 cases (14.3%), lung cancer – 5 cases (14.3%), metastases of mesenchymal sarcoma – 2 cases

(5.7%), thyroid cancer – 1 case (2.9%), unknown primary site – 1 case (2.9%) (Fig. 2).

In all observations, the epidural spinal cord compression scale (ESCC, 2011) was used (Fig. 3).

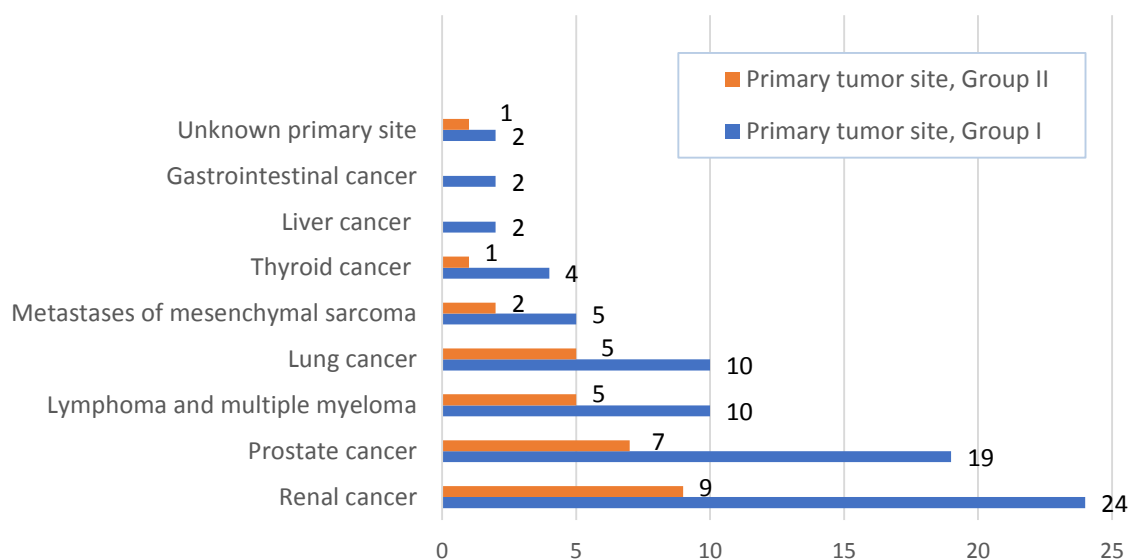


Figure 2 – Distribution of cases with regard to the primary tumor site

Pain syndrome (PS) in Group I before surgery scored 4.2 ± 0.3 and after surgery it was 2.4 ± 0.4 ($p < 0.05$) (Fig. 4). PS in Group II equaled 4.3 ± 0.3 before surgery and 3.1 ± 0.2 after surgery ($p < 0.05$) (Fig. 4).

The frequency of conduction disorders (motor and sensory segmental disorders), which were assessed using the Frankel scale before surgery and after surgery in Groups I and II, is presented in Fig. 5. Comparison of conduction disorders in

Group I showed the average score of 2.12 ± 0.21 in the preoperative period and 1.13 ± 0.14 – in the postoperative period ($p < 0.05$). Motor segmental disorders (MD) in Group I amounted to 3.13 ± 0.31 before surgery and 1.9 ± 0.23 after surgery, respectively ($p < 0.05$). Sensitive segmental disorders (SD) amounted to 3.23 ± 0.33 before surgery and 2.12 ± 0.24 in the postoperative period ($p < 0.05$).

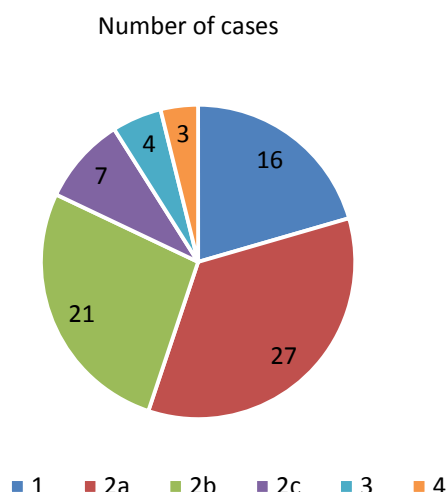


Figure 3 – Distribution of cases by the epidural spinal cord compression scale (ESCC, 2011)

In Group II, the values were as follows: 2.34 ± 0.23 before surgery and 1.67 ± 0.19 in the postoperative period ($p < 0.05$). MD equaled 3.23 ± 0.32 before surgery and 2.45 ± 0.26 after surgery. SD

amounted to 3.55 ± 0.36 before surgery and 3.22 ± 0.24 in the postoperative period ($p > 0.05$) (Fig. 5).

The choice of surgical access depended on a few factors such as tumor location relative to the dura mater, bones and nerve structures and was as follows: posterior access was used to resect tumors located posteriorly and posterolaterally to the brain; lateral access was used for tumors located laterally to the brain; anterior access was used to resect tumors located in front of the spinal cord.

In Group I, posterior access was used in 49 cases (67%), anterior access – in 19 cases (26%), and lateral access – in 5 cases (7%). In Group II, only posterior access was used (Fig. 6).

The analysis of quality of life indicators showed that patients in Group I significantly more often ($p = 0.035$) had a satisfactory condition in the early and long-term postoperative period vs. patients in Group II: 33 cases (45.4%) in Group I and 7 cases (18.7%) in Group II in the early period and 35 cases (48%) in Group I and 12 cases (33.3%) in Group II in the long-term period.

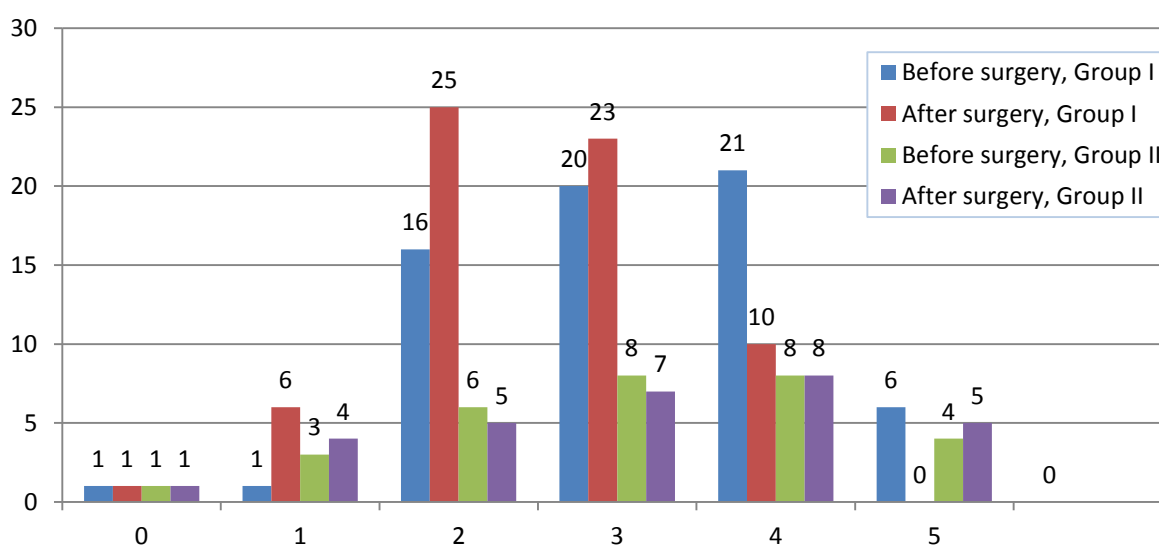


Figure 4 – Pain syndrome before and after surgery

Discussion

In contrast to primary tumors of the spine, spinal metastases were operated in order to improve the general condition of patients and maintain a good quality of life. That is, surgeons must take into account the somatic state of health of patients, instrumental study results, and the existing neurological deficit. In all cases, patients were first consulted in oncology centers and referred for further neurosurgical treatment.

The multifactorial approach to the differentiated selection of patients eligible for surgery allows

improving the results of combined treatment in patients with vertebral metastases.

The degree of epidural compression according to the epidural spinal cord compression scale (ESCC, 2011) has a direct correlation with neurological disorders. Significant regression of pain and conduction disorders was observed in patients with stages 1, 2a, and 2b. Possible regression of pathological symptoms was reported in patients with stages 2b and 3. There was almost no regression of conduction disorders in patients with stage 4.

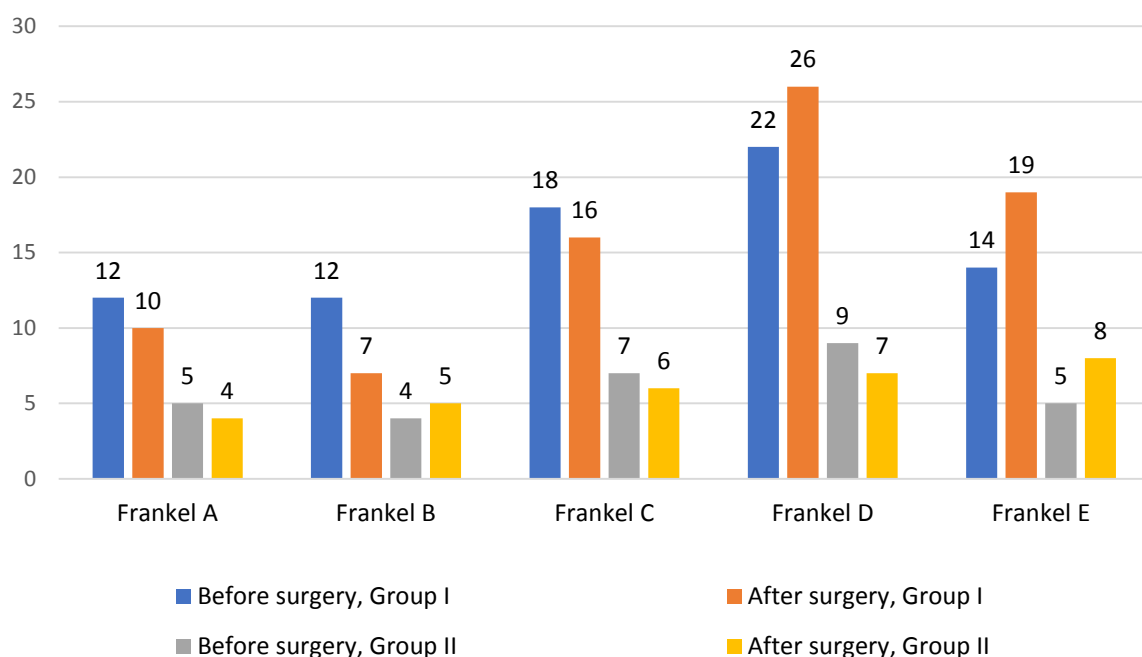


Figure 5 – Changes in neurological deficit by the Frankel scale

Selection of adequate surgical access for vertebral tumor resection in order to minimize nerve structure injury significantly improved the results of surgical treatment. Anterior and lateral access for ventral and ventrolateral tumors operation (Fig. 7, 8) made it possible to completely

resect the tumor, reduce the traction of nerve structures, and obtain sufficient visual control of the operating field during the surgery, which in turn had a positive effect on regression of pain and conduction disorders.

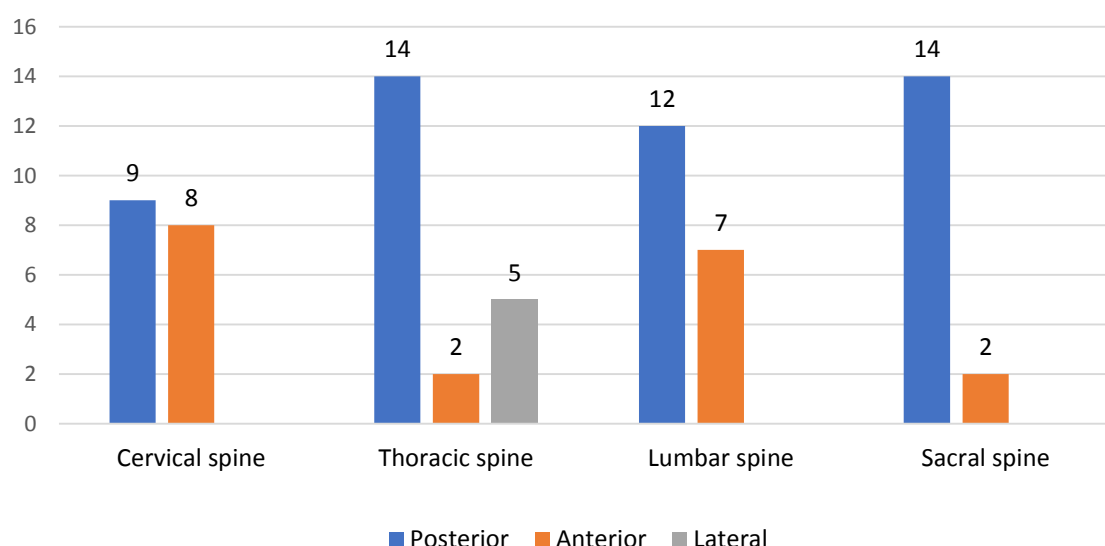


Figure 6 – Surgical accesses chosen for surgical treatment of patients

Thus, evaluation of positive changes in performance status of patients with account of regression of neurological deficit in the early and long-term postoperative period demonstrated that

the differentiated choice of surgical access to remove metastatic vertebral tumors provided a better quality of life in patients of Group I vs. Group II.

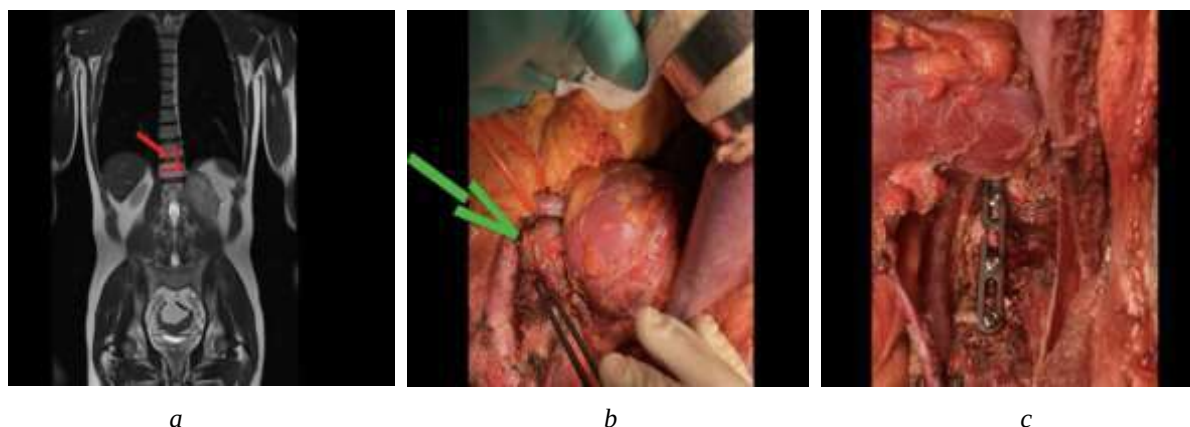


Figure 7 – Resection of L3 vertebral tumor using anterior access

- a. MRI frontal image (red arrow indicates tumor location);
 b. Intraoperative photo of tumor resection;
 c. Intraoperative photo after tumor resection and spine stabilization

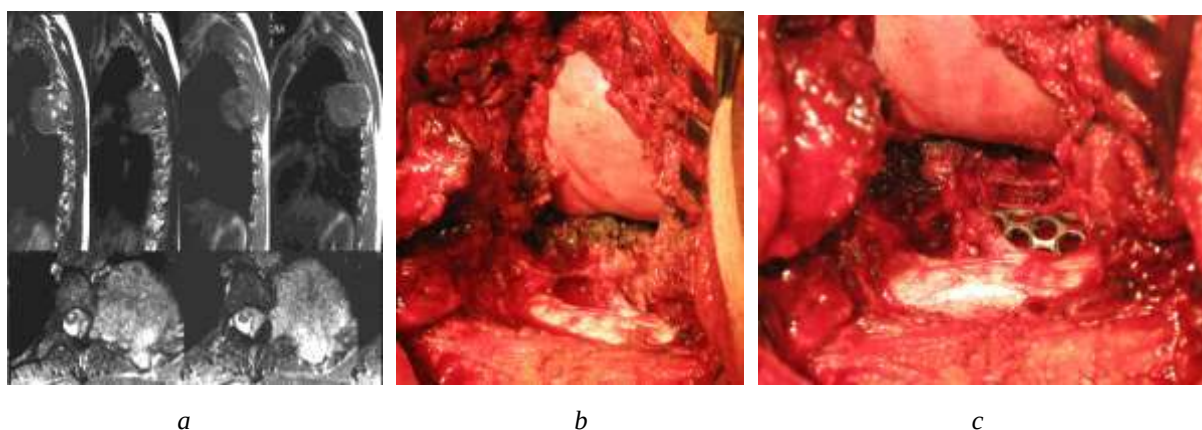


Figure 8 – Resection of Tn5–Tn7 vertebral tumors using anterior-lateral transthoracic access

- a. MRI sagittal view image of a patient with a tumor of Tn5–Tn7 vertebrae;
 b. MRI axial view image of a patient with a tumor of Tn5–Tn7 vertebrae;
 c. Intraoperative photo of tumor resection; d. Intraoperative photo after tumor resection and spine stabilization

Conclusions/Висновки

A differential approach to the choice of surgical access depending on tumor location in patients with vertebral tumors led to a reduction (38.7 ± 1.1 months in Group II; 18.5 ± 1.3 months in Group I) of neurological deficit and pain regression in the postoperative period.

Anterior and lateral access for ventral and ventrolateral tumors operation made it possible to completely resect the tumor, reduce the traction of nerve structures, and obtain sufficient visual control of the operating field during the surgery.

References/Список літератури

- Guo Y, Ngo-Huang AT, Fu JB. Perspectives on Spinal Precautions in Patients Who Have Cancer and Spinal Metastasis. *Phys Ther.* 2020 Mar 10;100(3):554-563. doi: 10.1093/ptj/pzz178. PMID: 32043130.
- Patnaik S, Turner J, Inaparthi P, Kieffer WK. Metastatic spinal cord compression. *Br J Hosp Med (Lond).* 2020 Apr 2;81(4):1-10. doi: 10.12968/hmed.2019.0399. PMID: 32339020.
- Nater A, Sahgal A, Fehlings M. Management - spinal metastases. *Handb Clin Neurol.* 2018;149:239-255. doi:

- 10.1016/B978-0-12-811161-1.00016-5.
PMID: 29307356.
4. Mossa-Basha M, Gerszten PC, Myrehaug S, Mayr NA, Yuh WT, Jabehdar Maralani P, Sahgal A, Lo SS. Spinal metastasis: diagnosis, management and follow-up. *Br J Radiol*. 2019 Nov;92(1103):20190211. doi: 10.1259/bjr.20190211. Epub 2019 Jul 25. PMID: 31322920; PMCID: PMC6849675
5. Vellayappan BA, Kumar N, Chang EL, Sahgal A, Sloan AE, Lo SS. Novel

multidisciplinary approaches in the management of metastatic epidural spinal cord compression. *Future Oncol*. 2018 Jul;14(17):1665-1668. doi: 10.2217/fon-2018-0133. Epub 2018 Jun 25. PMID: 29939082.

(received 04.07.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 04.07.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Слинько Євгеній Ігорович – завідувач відділення патології спинного мозку, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, м. Київ, Україна;

Потапов Олександр Олександрович – завідувач кафедри нейрохірургії та неврології медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, Україна;

Деркач Юрій Володимирович – лікар-нейрохірург відділення патології спинного мозку, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, м. Київ, Україна

Abstract

Oleksandr O. Potapov
[ORCID: 0000-0002-0913-3024](https://orcid.org/0000-0002-0913-3024)

Oleksiy P. Kmyta,
Oleksandr O. Tsyndrenko,
Maryna V. Pavlova,
Dmytro A. Zaporozhets,
*Department of Neurosurgery and
Neurology, Medical Institute, Sumy
State University, Sumy, Ukraine*

COMPREHENSIVE TREATMENT OF DISCOPATHIES OF
THE LUMBAR SPINE

Introduction. Degenerative disc disease is one of the most common diseases of the musculoskeletal system, characterized by dystrophic changes in the intervertebral disc and vertebral bodies adjacent to it. The main symptoms of this disease are pain and sensory and motor disorders, which, according to various authors, occur in 50–80% of adults.

The main objective of the study was to find and implement the optimal set of treatment measures for degenerative disc disease depending on the age of a patient.

Materials and Methods. The medical records of inpatients who were treated in the Neurosurgical Department of the Sumy Regional Clinical Hospital in 2019–2020 were analyzed. The course of treatment of 93 patients (61 men and 32 women) was studied. The patients were divided into groups according to their age: young age (under 25) – 13 men and 8 women; middle age (under 60) – 24 men and 19 women; and elderly age (over 60 years) – 18 men and 11 women.

The combined use of pathogenetically justified physiotherapeutic measures in the treatment complex is gaining more and more interest. Their distinctive features are physiologic nature, absence of allergic manifestations, the ability to influence most of the pathogenesis of the disease, and the organic combination with other therapeutic factors. Unfortunately, there is an increase in the incidence of temporary incapacitation and progressive course, which often leads to disability and significant financial costs associated with expensive modern methods of diagnosis, treatment, and further provision of employment to patients.

The results of our study show that complex treatment including pathogenetic drug therapy, complex paravertebral block, therapeutic physical exercise, and physiotherapy treatment methods provides adequate recovery of spinal function regardless of dystrophic and degenerative changes severity and patient's age.

Treatment of degenerative disc disease should be comprehensive and directed at the various symptoms and links of the pathological process.

Keywords: discopathy, degenerative disc disease, intervertebral disc, lumbar spine, pain syndrome.

Corresponding author:

Oleksandr O. Tsyndrenko, Department of Neurosurgery and Neurology, Medical Institute, Sumy State University, Sumy, Ukraine
e-mail: Tsyndrenko@ukr.net

Резюме

Олександр О. Потапов
ORCID: 0000-0002-0913-3024,
Олексій П. Кмита,
Олександр О. Циндренко,
Марина В. Павлова,
Дмитро А. Запорожець,
Кафедра нейрохірургії та неврології,
медичний інститут Сумського державного університету,
м. Суми, Україна

КОМПЛЕКСНЕ ЛІКУВАННЯ ДИСКОПАТІЙ ПОПЕРЕКОВОГО ВІДДІЛУ ХРЕБТА

Актуальність. Остеохондроз хребта є одним з найбільш поширених захворювань опорно-рухової системи, характеризується дистрофічними змінами в міжхребцевому диску і тілах хребців, що прилягають до нього. Основними симптомами цього захворювання є біль, чутливі та рухові порушення, які, за даними різних авторів, зустрічаються у 50–80 % дорослого населення.

Основною метою і завданням дослідження був пошук із подальшим впровадженням у практику оптимального комплексу лікувальних заходів при остеохондрозі залежно від віку хворого.

Матеріали та методи. Було проведено аналіз медичних карт стаціонарних хворих, що знаходились на лікуванні в нейрохірургічному відділенні КНП СОР «Сумська обласна клінічна лікарня» в 2019–2020 роках. Проаналізовано перебіг лікування 93 пацієнтів (61 чоловік та 32 жінки). Розподіл на групи проводили за віком: молодого віку (до 25 років) – 13 чоловіків та 8 жінок, середнього (до 60) – 24 чоловіка та 19 жінок, та старшого віку (старші 60 років) – 18 чоловіків та 11 жінок.

Все більшого визнання отримує комбіноване використання патогенетично обґрунтованих фізіотерапевтичних факторів у лікувальному комплексі. Відмінною особливістю їх є фізіологічність, відсутність алергічних проявів, можливість впливати на більшість ланок патогенезу захворювання та органічне поєднання з іншими лікувальними факторами. На жаль, спостерігається зростання захворюваності з тимчасовою втратою працездатності та тенденцією до прогресивного перебігу, що часто призводить до інвалідності, суттєвих матеріальних витрат, що пов'язано з дороговартісними сучасними методами діагностики, лікування та подальшим працевлаштуванням хворих.

Результати нашого дослідження свідчать, що комплексне лікування із застосуванням патогенетичної медикаментозної терапії, комплексних паравертебральних блокад, лікувальної фізичної культури, фізіотерапевтичних методів лікування, забезпечує адекватне відновлення функції хребта незалежно від вираженості дистрофічно-дегенеративних змін і віку хворого.

Лікування остеохондрозу хребта має бути комплексним, спрямованим на різні симптоми та ланки патологічного процесу.

Ключові слова: дископатія, остеохондроз, міжхребцевий диск, поперековий відділ хребта, больовий синдром.

Автор, відповідальний за листування:

Циндренко Олександр Олександрович, кафедра нейрохірургії та неврології, Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Україна
e-mail: Tsyndrenko@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Potapov OO, Kmyta OP, Tsyndrenko OO, Pavlova MV, Zaporozhets DA. Comprehensive treatment of discopathies of the lumbar spine. *EUMJ*. 2021;9(4):318-324
DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):318-324](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):318-324)

Introduction/Вступ

Discopathy is a medical condition of the spine caused by degenerative and dystrophic changes involving the musculoskeletal system and leading

to its further dysfunction. The disease is manifested by deformation, height reduction and dehydration of intervertebral discs. Deformation of the discs leads to loss of elasticity with further development of complicated degenerative disc disease. Today,

degenerative disc disease is widespread – about 80% of the population present with this problem. Discopathies can also occur in children. The peculiarity of pediatric degenerative disc disease is the slowing down of growth and deformation of the developing skeletal bones [1].

Restriction of mobility is the main symptom that helps to recognize a discopathy. The patient experiences dull or sharp pain, which leads to stiffness and reduces vital activity. The most common causes are increased load on the spine, injuries, and hereditary predisposition [3].

Today, prevention and timely treatment of degenerative disc disease is the goal to achieve for everyone who wants to maintain his health and performance.

The incidence of degenerative disc disease in adults is associated with continuous, heavy load on the spine or prolonged sitting, for example, when working on a computer or driving a car. On average, the incidence of degenerative disc disease is equally common in both men and women of up to 50 years of age. However, the first signs appear earlier – at about 25–35 years [2].

Degenerative disc disease of the lumbar spine is the most common type of the disease. The reason is that this part of the spine is exposed to the heaviest load, especially when bending the trunk or lifting heavy objects. However, in the sitting position, the intervertebral discs are also affected. With frequent and prolonged sitting, the back muscles gradually become hypotrophied, losing their strength and elasticity, while the load remains significant [1].

With degenerative disc disease of the lumbar spine, the patient experiences back pain. The pain can be aching or lumbago-like. Pathological sensations appear in the lower back, but can irradiate to the buttocks and legs. In addition to pain, lumbar degenerative disc disease may be characterized by numbness of the lower extremities and functional disorders of pelvic organs.

Scientists consider degenerative disc disease as a normal natural phenomenon due to degeneration of the human body. Apart from that, the development of the disease triggers a cascade of reactions caused by a lack of vitamins and trace elements necessary for bone regeneration. A key role is played by deficiencies of trace elements such as calcium and zinc.

Frequent catarrhal diseases also contribute to disease activation. Climate factors have been associated with the increased risk of degenerative

disc disease in people living in high humidity areas [5].

Heavy object lifting, injuries, and other factors of mechanical load on the spine damage intervertebral discs, and their cartilage tissue loses stability and elasticity. Injury at a young age can play a key role after many years. When the backbone is healthy, intervertebral disks provide elasticity and flexibility. However, over time, the discs gradually lose these properties and begin to change position. This causes pain and other symptoms of degenerative disc disease. However, the diagnosis of any type of degenerative disc disease is complicated by multifactorial symptoms which depend on age, exercise, posture, obesity, lifestyle, etc. [3].

Due to the multifactorial nature of degenerative disc disease development, the immediate cause is not always easily determined, and the diagnosis is difficult. Symptoms of the disease are unclear and the etiology is not fully understood [5].

The treatment of degenerative disc disease directly depends on its stage: an early stage of the disease usually requires massage and physiotherapy, but if the course is more severe, all these measures will only serve a preventive effect, since in this case, more radical treatment is needed. Treatment of discopathies falls into two categories: surgery and conservative therapy. The main indications for surgical treatment are long-term acute pain caused by intervertebral disc protrusion, spinal instability and/or stenosis of the spinal cord, ineffectiveness of conservative therapy. There are two techniques to perform the operation: microsurgical and classical. The first technique is a more state-of-the-art method. The operation is performed via a small incision, through which a special tool is introduced, with bone structures left intact. After such an operation, the rehabilitation period is accelerated. The classic technique of surgery involves a larger incision, and thus, a more serious trauma, with partial removal of bone structures. In this case, the patient needs long-term postoperative rehabilitation [6].

Conservative treatment strategies include all therapeutic procedures used in the early stage of degenerative disc disease: massage, therapeutic exercise (a set of special exercises selected individually by a qualified specialist), physiotherapy (electrophoresis, magnetic therapy, ultrasound, etc.), acupuncture therapy [7].

Physiotherapy methods are included in national clinical guidelines and standards of care for

degenerative disc disease. To treat lumbar degenerative disc disease, the following are used: electromyostimulation, amplipulse therapy, shock wave therapy, intratissual electric stimulation, laser therapy. Magnetic therapy remains a commonly used method in complex treatment. Its advantages include good tolerability and few contraindications, as well as its suitability for the period of exacerbation. By affecting all parts of the pathological process, it significantly reduces pain after a few procedures and allows expanding motor activity volume. In addition, improving the trophism in the affected tissues slows down the progression of the disease [6].

Therapeutic exercise is an integral part of the comprehensive treatment of degenerative disc disease. Exercises aimed at maintaining the tone of the spine skeletal muscles and relieving pathological muscle spasms, help to restore and maintain motor activity and reduce pain severity. A significant advantage of exercise therapy is that after a few sessions with a trainer, a patient can perform exercises at home every day. The most effective method of exercise therapy is mechanotherapy that is training with simulators according to an individually developed plan with no axial load, as core muscles formation requires weight training [7].

Immobilization devices are widely used. These are spinal supports of various designs to protect the spine against sudden, possibly injuring movements and redistribute the load during static work. It is advisable to use them only during the action of adverse factors (driving, sedentary work, etc.) since long-term use contributes to the development of muscle hypotrophy and exacerbation of the disease [6].

Drug therapy: analgesics, anti-inflammatory, and anti-edematous drugs, drugs to improve blood flow, muscle relaxants, Pregabalin, Gabapentin. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are most often used in the treatment of this pathology. They are available in various formulations for both topical (gel, ointment) and systemic use (tablets, rectal suppositories, solutions for intramuscular and intravenous administration). Their action is based on blocking the inflammatory process at the enzymatic level, which eliminates edema in the affected area and significantly reduces pain. In the early stage of the disease, local use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in combination with non-drug methods (therapeutic exercise, magnetic therapy) may be sufficient. In case of the expressed pathological process and severe pain syndrome, it is

necessary to use tablets or even injectable drugs. However, despite the anti-inflammatory and analgesic effect of NSAIDs, long-term systemic use may cause or exacerbate ulcerative-erosive processes of the gastrointestinal tract, as well as renal and hepatic disorders. Therefore, patients who take NSAIDs for a long time also need drugs for gastric mucosa protection [4].

In case of insufficient effectiveness of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, it is advisable to use them in a combination with analgesics and drugs for vegetative system correction first before trying dose titration. Among the whole range of modern anticonvulsants, Pregabalin and Gabapentin are most often used to eliminate neuropathic pain. Their action is associated with decreased sensitization, restoration of neurotransmitter balance, increased gamma-aminobutyric acid-ergic effects, and reduced effects of glutamate [7].

Systemic muscle relaxants, which relieve muscle spasms, are also widely used. They act to relax spasmodic muscles, reduce the compression of nerves and blood vessels and lessen edema in the affected area; this improves blood circulation and innervation and, thus, relieves pain. Reduced muscular defense allows the tension of the ligaments to decrease; the pain subsides, while the volume of movements increases. Muscle relaxants for the treatment of degenerative disc disease are available in the form of tablets and solutions for intramuscular administration; to achieve a therapeutic effect, they are taken for a long time with a gradual dose increase [8].

B vitamins are used both as tablets and solutions for intramuscular administration. They are believed to have a neurotrophic and mild analgesic effect, but there is no reliable evidence-based justification for their use in degenerative disc disease [6].

Another effective technique is the correction of pain with drug nerve blocks. This is an injection given to the affected area to "switch off" the pain reflex, relieve inflammation, lessen swelling around the nerve root, and improve its trophism. The therapeutic block is necessary to break the vicious circle: pain impulse – muscle spasm – pain. The drug is injected at a certain point – in the segment of the spine, where the pain is most severe. The drug "envelops" the affected nerve trunks and blocks pain receptors, which helps to achieve a therapeutic effect: analgesia and elimination of edema and inflammation. With the drug block, the pain regresses in 3 stages: first, the intensity of pain

increases due to irritation of nerve receptors with a needle, then the pain is gradually mitigated; in the third stage, the pain disappears. As compared to other therapeutic methods, the advantages of therapeutic blocks are: rapid relief; the drug acts directly at the site of pain and provides a quality analgesic effect; the active substance is administered directly at the pain point that minimizes the risk of side effects. In addition to the direct analgesic effect, drug nerve block relieves muscle spasm and vessel wall spasm, provides an excellent therapeutic effect for a long time, eliminating both pain and its causes, and improves trophism of affected tissues. The procedure can be performed repeatedly, at the time of disease exacerbation accompanied by pain [9].

There is a basic classification of spinal nerve blocks: receptor block, tissue block, ganglion block, conduction block, paravertebral block. A paravertebral block is one of the most commonly used procedures to relieve pain in degenerative disc disease. A paravertebral block is a collective concept. This term suggests that the doctor injects an analgesic in close proximity to the affected segment of the spine. This procedure can be performed in different ways: intradermally, subcutaneously, intramuscularly, near the nerve root or in the perineural area. Sometimes the paravertebral injection is performed to block the ganglia of the sympathetic trunk if the pain is caused by the protrusion of the intervertebral disc [8].

Epidural block of the lumbar part is a block of spinal nerve roots, for which the anesthetic is injected into the epidural space – the space in the spinal canal between the vertebral canal and the spinal cord. The anesthetic drug is administered at the border of the sacral and lumbar spine. Once in this area, the solution spreads to several segments above and below. The anesthetic administered epidurally blocks nerve receptors in vertebral segments affected with degenerative disc disease. It relieves pain, as well as eliminates the inflammatory process, which is a common cause of pain in degenerative disc disease. Patients hardly feel the drug injection moment, with the exception of patients having intervertebral discs protrusions or hernias. They experience a significant increase in pain during administration, but after the procedure, the pain disappears after 2–3 minutes [5].

An intra-articular block is also used in lumbar degenerative disc disease. The drug is injected into the joint capsule of the facet joint in the lumbar

region. This technique is actively used to treat acute and chronic back pain. The course consists of 3–4 procedures with an interval of 5–7 days. In many patients, the therapeutic effect occurs in 10 minutes after the procedure. Within half an hour, less severe pain returns, and then gradually passes away. Two types of drugs are most often used for nerve block therapy: local anesthetics and glucocorticosteroids. As a preventive measure, the patient is recommended to remain in the prone position for several hours after the procedure. In the coming few days, physical exertion and active motor activity must be excluded. Improper behavior and non-compliance with the appropriate regime will cancel the entire effect of previous treatment of degenerative disc disease [10].

The main objective of the study was to find and implement the optimal set of treatment measures for degenerative disc disease depending on the age of a patient.

Materials and Methods. The medical records of inpatients who were treated in the neurosurgical department of the Sumy Regional Clinical Hospital in 2019–2020 were analyzed. The course of treatment of 93 patients (61 [65.6%] men and 32 [34.4%] women) was studied. The patients were divided into groups according to their age: young age (under 25) – 13 men and 8 women (22.6%); middle age (26–60) – 24 men and 19 women (46.2%); and elderly age (over 60 years) – 18 men and 11 women (31.2%).

Results. In our study, it was found that younger patients responded well to conservative treatment and especially to traction therapy, and their rehabilitation period after the surgery passed faster. In the group of middle-aged and elderly patients, an MRI study revealed moderate spondylosis and spondyloarthritis in 33 people (35.5%), which were a manifestation of dystrophic-degenerative changes in the lumbar spine. In the group of young patients, 5 (5.4%) patients (3 men and 2 women) required surgical treatment, i.e. sparing microdiscectomy; 9 (9.7%) patients in the middle-age group had classical surgery (6 men and 3 women); 6 (6.5%) patients in the elderly group were operated without sparing microdiscectomy, which was associated with severe degenerative-dystrophic changes in the lumbar spine (4 men and 2 women).

Patients who did not require surgical treatment responded well to conservative therapy, paravertebral blocks, physiotherapy, and traction therapy, followed by adaptation and therapeutic exercise to strengthen the muscular skeleton. It

should be noted that therapeutic exercise was performed in the period after severe pain had been relieved.

In the group of young patients, paravertebral blocks were effective after 2–3 procedures in 76.2% of patients; in the middle-aged group, a full course (5 procedures) was performed in 69.8% of patients to relieve pain; and only 34.5% of patients in the elderly group responded well to the course of paravertebral (17.25%) and intra-articular (17.25%) blocks without requiring further intensive treatment at a specialized department.

Epidural blocks were performed, and were effective, in 2 patients of the middle-age group and one patient in the elderly group, but did not have statistical significance for the assessment of overall treatment outcomes, and were associated with other factors and features of the disease in these patients.

Conclusions/Висновки

The results of our study show that complex treatment including pathogenetic drug therapy, complex paravertebral block, therapeutic physical exercise, and physiotherapy treatment methods provides adequate recovery of spinal function

In the elderly group, a neuropathic type of pain was observed more often (in 86.2% of patients) and required long-term pathogenetic treatment with prolonged rehabilitation of up to 2–3 months.

Non-drug, non-invasive, and non-surgical treatment strategies, especially therapeutic exercise and physiotherapy, were effective in 71.4% of patients of Group I, 65.1% – in Group II, and 41.4% – in the elderly group.

Discussion. The results of our study were consistent with the results of Shao-qing Chen and Luciana G. Macedo, who assessed the age-related aspects of lumbar degenerative disc disease, and with the findings of Margaux Boisson and Kamal Constantin Kamal; however, they differed from the data of David Oehme, Karin D. van den Eerenbeemt and Masoud Hashemi in the data related to the methods of conservative and surgical treatment of discopathies.

regardless of dystrophic and degenerative changes severity and patient's age.

Treatment of degenerative disc disease should be comprehensive and directed at the various symptoms and links of the pathological process.

References/Список літератури

- Samini F, Gharedaghi M, Khajavi M, Samini M. *Iran Red Crescent Med J.* 2019 Oct; 16(10): e15670. PMID: 315670. PMCID: PMC4329753. PMID: 25763198. doi: 10.5812/ircmj.15670
- Chen S, Li Q, Huang Y, Guo A. Different spinal subtypes with varying characteristics of lumbar disc degeneration at specific level with age: a study based on an asymptomatic population. *J Orthop Surg Res.* 2020; 15: 3. PMID: 31900188. PMCID: PMC6942411. doi: 10.1186/s13018-019-1537-7
- Macedo L, Michele C. Battie. The association between occupational loading and spine degeneration on imaging – a systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskeletal Disord.* 2019; 20: 489. PMID: 31656182. doi: 10.1186/s12891-019-2835-2
- Boisson M, Lefèvre-Colau M, Rannou F, Nguyen C. Active discopathy: a clinical reality. *RMD Open.* 2018; 4(1): e000660. PMID: 29682329. PMCID: PMC5905838. doi: 10.1136/rmdopen-2018-000660
- Kamal K, Alexandru D, Kamal D, Teodora D, Kamal A, Radu M, Rodica Traistaru M. Managing Low Back Pain in Primary Care. *Curr Health Sci J.* 2020 Oct-Dec; 46(4): 396–404. PMID: 33717515. PMCID: PMC7948016. doi: 10.12865/CHSJ.46.04.11
- Karin D, Raymond W, Ostelo, Barend J, Wilco C. Peul, Maurits W. Total disc replacement surgery for symptomatic degenerative lumbar disc disease: a systematic review of the literature. *Eur Spine J.* 2020 Aug; 19(8): 1262–1280. PMID: 32989191. PMCID: PMC2989191. doi: 10.1007/s00586-010-1445-3
- Oehme D, Goldschlager T, Ghosh P, Jeffrey V, Jenkin G. Cell-Based Therapies Used to Treat Lumbar Degenerative Disc Disease: A Systematic Review of Animal Studies and Human Clinical Trials. *Stem Cells Int.* 2016; 946031. PMID: 26074979. PMCID: PMC4446495. doi: 10.1155/2015/946031
- Hashemi M, Dadkhah P, Taheri M, Katibeh P, Asadi S. Effectiveness of intradiscal injection of radiopaque gelified ethanol versus percutaneous laser disc decompression in

- patients with chronic radicular low back pain. *Korean J Pain*. 2020 Jan; 33(1): 66–72. PMID: PMC6944373. PMID: 31888320 doi: 10.3344/kjp.2020.33.1.66
9. Wang T, Ma L, Yang D, Wang H, Zhang D. Radiological analysis for thoracolumbar disc herniation in spinopelvic sagittal alignment. *Medicine (Baltimore)* 2017 Apr; 96(14): e6593. PMID: PMC5411225. PMID: 28383441. doi: 10.1097/MD.00000000000006593
10. Fiani B, Jarrah R, Wong A, Alamah A, Runnels J. Repetitive traumatic discopathy in the modern-era tennis player. *Cureus*. 2020 Aug; 12(8): e9783. PMID: PMC7491697. PMID: 32953299. doi: 10.7759/cureus.9783

(received 31.10.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 31.10.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Потапов Олександр Олександрович – завідувач кафедри нейрохірургії та неврології, доктор медичних наук, професор, медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Україна (<https://orcid.org/0000-0002-0913-3024>, e-mail: potapov.neiro@gmail.com)

Кмита Олексій Петрович – асистент кафедри нейрохірургії та неврології, кандидат медичних наук, медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Україна (e-mail: alex_kmyta@ukr.net)

Циндренко Олександр Олександрович – аспірант кафедри нейрохірургії та неврології, медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Україна (e-mail: tsyndrenko777@gmail.com)

Павлова Марина Вікторівна – студентка 6 курсу, ЛС- 605, медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Україна (e-mail: marishka26pavlova@gmail.com)

Запорожець Дмитро Андрійович – студент 6 курсу, ЛС-607, медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми, Україна (e-mail: zap-dima@ukr.net)

Abstract

Serhiy V. Popov

ORCID: 0000-0002-1789-1474

Oleksandr I. Smiyan

ORCID: 0000-0001-8225-0975

Olena H. Vasylieva

ORCID: 0000-0003-4470-8740

Liudmyla A. Iusiuk¹

Anastasiia O. Profatylo

ORCID 0000-0002-8032-7323

Tetyana V. Romanenko

Dmitro A. Govorun

Department of Pediatrics, Sumy State University, Sumy, Ukraine;

¹Neonatal Intensive Care Unit, Municipal Non-Profit Institution of Sumy Regional Council "Regional Clinical Children's Hospital", Sumy, Ukraine

ANTIBIOTIC-ASSOCIATED BLOOD CHANGES IN NEWBORNS

Objective. The objective of the study was to determine the chances of a decrease in CBC cells when using antibiotics in newborns.

Materials and methods. A total of 46 newborn infants who were hospitalized with the main diagnosis of hypoxic ischemic encephalopathy were examined. By gestational age, they belonged to the late-preterm and term groups. The newborns were divided into 2 subgroups. Group 1 – main group: 25 children who received antibiotics; group 2 – control group: 21 children who did not receive antibiotics. Group 1 was divided into 2 subgroups: Group 1a, 16 newborns who received 1 antibiotic and Group 1b, 9 newborns who received 2 antibiotics. Antibiotics were administered at age-related doses, intravenously, including semi-synthetic penicillins, cephalosporins, aminoglycosides, carbapenems, glycopeptides. The features of the analysis of blood (CBC) were studied.

Results. It was noted that in terms of general characteristics, the newborns of the main and control groups were comparable. When comparing the mean values of blood counts, a significant decrease in erythrocytes, leukocytes and erythrocytes was revealed in the group of newborns who received antibiotics in comparison with the control group. The absolute number of neutrophils was significantly lower in the group of newborns who received 2 antibiotics vs. the control group. The odds ratio calculation showed an increased risk of a decrease in cell levels with antibiotic therapy prescribed. Leukocytes were found to have the greatest chances of decreasing from the normative level – by 5.34 times, as well as erythrocytes – by 3.56 times. The absolute number of neutrophils decreased with the greatest chances when 2 antibiotics were administered – by 22 times.

Conclusions. In general, the antibiotic therapy leads to a decrease in the number of erythrocytes, leukocytes, platelets. This was most noted for leukocytes and erythrocytes. The absolute neutrophil count decreased most significantly with 2 antibiotics used.

Keywords: newborns, antibiotic therapy, complete blood count, cytopenia.

Corresponding author:

Serhiy V. Popov, Department of Pediatrics, Sumy State University, Sumy, Ukraine

e-mail: s.popov@med.sumdu.edu.ua

Резюме

Сергій В. Попов

ORCID: 0000-0002-1789-1474

Олександр І. Сміян

ORCID: 0000-0001-8225-0975

Олена Г. Васильєва

ORCID: 0000-0003-4470-8740

Людмила А. Юсюк¹

Анастасія О. Профатило

ORCID 0000-0002-8032-7323

Тетяна В. Романенко

Дмитро А. Говорун

кафедра педіатрії, Сумський державний університет, м. Суми, Україна;

¹відділення інтенсивної терапії новонароджених дітей, КНП «СОР ОДКЛ», м. Суми, Україна

АНТИБІОТИК-АСОЦІЙОВАНІ ЗМІНИ КРОВІ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

Мета. Метою дослідження було визначення шансів зниження клітин загального аналізу крові під час використання антибіотиків у новонароджених.

Матеріали та методи. Усього було досліджено 46 новонароджених дітей, які перебували на стаціонарному лікуванні з основним діагнозом гіпоксично-ішемічна енцефалопатія. За гестаційним віком вони належали до груп пізньодонашених і доношених. Новонароджені були поділені на 2 підгрупи. Група 1, основна, 25 дітей, які отримували антибіотики, група 2, контрольна група, 21 дитина, які не отримували антибіотики. У свою чергу, група 1 була розділена на дві підгрупи: група 1a, 16 новонароджених, які отримували 1 антибіотик та група 1b, 9 новонароджених, які отримували 2 антибіотики. Антибіотики вводилися у вікових дозах, внутрішньовенно, до них входили полісинтетичні пеніциліни, цефалоспори́ни, аміноглікозиди, карбапенеми, глікопептиди. Вивчалися особливості аналізу крові за основними показниками.

Результати. Зазначено, що за загальними характеристиками новонароджені основної і контрольної груп були порівнянні. При аналізі середніх значень показників крові було виявлено достовірне зниження еритроцитів, лейкоцитів та еритроцитів у групі новонароджених, які отримували антибіотики, порівняно з контрольною групою. Абсолютна кількість нейтрофілів була достовірно низькою для групи новонароджених, які отримували 2 антибіотики, відносно контрольної групи. Розрахунок відношення шансів показав наявність підвищених шансів зниження кількості клітин крові при призначенні антибактеріальної терапії. Найбільші шанси зниження рівня від нормативного виявлено для лейкоцитів – в 5,34 рази, еритроцитів – в 3,56 рази. Абсолютне число нейтрофілів знижувалося з найбільшими шансами при введенні 2 антибіотиків – в 22 рази.

Висновок. Призначення антибактеріальної терапії призводить до зниження кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів. В найбільшій мірі це відзначалося для лейкоцитів та еритроцитів. Абсолютна кількість нейтрофілів найбільше значно знижувалася при використанні 2 антибіотиків.

Ключові слова: новонароджені, антибіотикотерапія, загальний аналіз крові, цитопенія.

Автор, відповідальний за листування:

Сергій В. Попов, кафедра педіатрії, Сумський державний університет, м. Суми, Україна

e-mail: s.popov@med.sumdu.edu.ua

How to cite/ Як цитувати статтю: Popov SV, Smiyan OI, Vasyliieva OH, Iusiuk LA, Profatylo AO, Romanenko TV, Govorun DA. Antibiotic-associated blood changes in newborns. *EUMJ*. 2021;9(4):325-331

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):325-331](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):325-331)

Introduction/Вступ

The neonatal period is accompanied by a significant level of morbidity and mortality. Modern technologies for nursing and treating pathological conditions of newborns have led to an

improvement in their survival rates. In no small part, this is due to the use of aggressive and invasive methods of diagnosis and treatment, which can increase the risk of infection. Along with a significant proportion of infectious diseases in the neonatal period, this leads to the widespread use of

antibacterial agents [1, 2]. Antibiotics are a key factor in the treatment of infectious diseases and significantly improve newborn survival. However, they also have a fairly wide range of complications. In addition to the formation of a pool of microorganisms with increased resistance, these include the development of microbiome disorders of varying degrees, antibiotic associated diarrhea, and allergic reactions [3, 4]. A number of authors note a decrease in the number of blood corpuscles. The mechanism of development of cytopenia is different and includes direct toxic effects on the bone marrow and/or myeloid precursors, antibody-mediated destruction of blood cells. Studies have established the dose-dependent effect of beta-lactam antibiotics on granulopoiesis [2, 5, 6, 7, 8]. Other authors reported about antibodies-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia. The degree of change in the number of blood cells can be significant and life-threatening [9, 10, 11]. At the same time, there is no uniform idea about the predominant damage to blood cells. Some authors point to predominantly detectable neutropenia, anemia and thrombocytopenia [12]. Others describe the development of thrombocytopenia when using antibiotics among the 4 main groups of drugs [10].

Objective

The objective of the study was to determine the chances of a decrease in CBC cells when using antibiotics in newborns.

Materials and methods

A total of 46 newborn infants who were hospitalized with the main diagnosis of hypoxic ischemic encephalopathy were examined. By gestational age, they belonged to the late-preterm and term groups. The newborns were divided into 2 subgroups. Group 1 – main group: 25 children who received antibiotics; group 2 – control group: 21 children who did not receive antibiotics. In turn, Group 1 was divided into 2 subgroups: Group 1a, 16 newborns who received 1 antibiotic and Group 1b, 9 newborns who received 2 antibiotics. Antibiotics were administered at age-related doses, intravenously, including semi-synthetic penicillins, cephalosporins, aminoglycosides, carbapenems, glycopeptides. The features of the analysis of blood (CBC) were studied according to the indicators of RBC – red blood cells; MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV – mean corpuscular volume; WBC – white blood cells; ANC – absolute neutrophils count; PLT – platelets;

MPV – mean platelets volume. The presence of differences between Group 1 and Group 2, as well as Group 1a and Group 1b with Group 2, was assessed. To assess the chances of developing cytopenia, reference values of the lower limit of normal and average values for RBC, WBC, ANC, PLT indicators were used [13, 14].

All statistical data were processed using a standard statistical formula. Continuous variables were confirmed for normal distribution by the Kolmogorov–Smirnov test and expressed as mean values $\pm$ standard error ($M \pm SE$). Differences between the two groups in continuous variables were analyzed using an independent t-test for normal distribution. The odds ratio (OR) was obtained. For statistical significance calculating the criteria χ^2 , Fisher (F), Student test (t) were used. P-value of < 0.05 was considered statistically significant.

All research methods and experiments have been examined and approved by the appropriate Ethics Committee and have therefore been performed in accordance with the ethical standards laid down in the Declaration of Helsinki.

Results

General characteristics of the studied groups of newborns are presented in Table 1. The average body weight at birth was the smallest in Group 1b – 2638.85 ± 112.33 grams, the highest in Group 2 – 2865.25 ± 83.17 grams. At the same time, there was no significant difference between them. The average body length at birth was also the lowest in Group 1b children – 46.97 ± 0.61 cm and the highest for Group 2 – 47.72 ± 0.45 cm. This indicator also did not have significant differences between the study groups. The gestational age of newborns was within the values for the characteristics of late-preterm and term groups. This applied to children of all studied groups, no significant differences were found in this indicator, the mean values ranged from 35.21 ± 0.32 to 36.22 ± 0.23 weeks. The Apgar scores characterized the presence of asphyxia in children of all studied groups. The mean values of the assessment at the 1st minute of life were in the range from 3.9 ± 0.47 to 4.7 ± 0.54 units, there was no significant difference between the groups, and corresponded to the presence of moderate and severe asphyxia. There was a positive dynamics of assessment on the Apgar scale by the 5th minute of life. Its mean value ranged from 6.64 ± 0.59 units in Group 1a to

Table 1 – The general indexes of the newborns

Indexes	Group 1a (16)	Group 1b (9)	Group 1 (25)	Group 2 (21)
Birthweight, grams, mean $\pm$ SE	2723,11 $\pm$ 104,67	2638,85 $\pm$ 112,33	2698,35 $\pm$ 78,24	2865,25 $\pm$ 83,17
Length at birth, cm, mean $\pm$ SE	47,88 $\pm$ 0,41	46,97 $\pm$ 0,61	47,12 $\pm$ 0,37	47,72 $\pm$ 0,45
Gestation age, mean $\pm$ SE	35,21 $\pm$ 0,32	36,08 $\pm$ 0,44	36,16 $\pm$ 0,57	36,22 $\pm$ 0,23
Child's age of antibiotic therapy onset, days, mean $\pm$ SE	2,31 $\pm$ 0,41	1,87 $\pm$ 0,45	2,03 $\pm$ 0,31	2,34 $\pm$ 0,36
Child's age of analysis, days, mean $\pm$ SE	10,26 $\pm$ 0,48	9,97 $\pm$ 0,64	10,23 $\pm$ 0,38	9,76 $\pm$ 0,6
Apgar 1, mean $\pm$ SE	4,7 $\pm$ 0,54	3,9 $\pm$ 0,47	4,32 $\pm$ 0,39	4,6 $\pm$ 0,41
Apgar 2, mean $\pm$ SE	6,64 $\pm$ 0,59	6,96 $\pm$ 0,77	6,81 $\pm$ 0,46	7,01 $\pm$ 0,54
Boys, absolute value/%	9/56,25	5/55,56	14/56	12/57,14
Girls, absolute value/%	7/43,75	4/44,44	11/44	9/42,86
Mother's age, years, mean $\pm$ SE	26,82 $\pm$ 2,17	29,57 $\pm$ 2,2	27,81 $\pm$ 1,61	28,62 $\pm$ 1,7

Note: * - significant difference between indexes of Group 1a, Group 1b, Group 1 with Group 2

7.01 $\pm$ 0.54 units in Group 2. No significant differences were found between the study groups. The number of boys outnumbered girls and ranged from 55.56% to 57.14% in Group 1b and Group 2, respectively. The values did not differ significantly between all the study groups. The age of the mother of the children of the study groups was from 26.82 $\pm$ 2,17 to 29.57 $\pm$ 2.2 years in Group 1a and Group 1b, respectively. The mean values did not differ for the children of the study groups ($p > 0.05$). The start of antibiotic therapy was started in the early neonatal period and ranged from 1.87 $\pm$

0.45 to 2.34 $\pm$ 0.36 days of life. No difference was found between groups ($p > 0.05$). The age of children when CBC was taken was at the beginning of the second week of life. It ranged from 9.97 $\pm$ 0.64 to 10.26 $\pm$ 0.48 days in Group 1b and Group 1a, respectively. The values did not differ significantly between all the studied contingents. Thus, the values of the general characteristics of the studied groups were comparable.

The results of the blood test parameters in the groups are presented in Table 2. The RBC value

Table 2 – The CBC indexes in newborn of studied groups (Main value and its error)

Indexes	Group 1a	Group 1b	Group 1	Group 2
RBC, $10^{12}/l$	3.84 $\pm$ 0.14	3.62 $\pm$ 0.19	3.64 $\pm$ 0.12	4.1 $\pm$ 0.14
P with Group 2			0.016	
MCHC, g/l	349.37 $\pm$ 9.06	331.84 $\pm$ 11.22	343.59 $\pm$ 7.13	356.25 $\pm$ 11.87
P with Group 2				
MCV, fl	91.26 $\pm$ 3.93	89.21 $\pm$ 5.38	90.55 $\pm$ 3.12	91.44 $\pm$ 4.6
P with Group 2				
WBC, $10^9/l$	6.13 $\pm$ 0.43	5.81 $\pm$ 0.53	5.92 $\pm$ 0.33	7.3 $\pm$ 0.46
P with Group 2		0.043	0.019	
ANC, units	6793.94 $\pm$ 167.55	6366.28 $\pm$ 178.23	6579.21 $\pm$ 130.19	7032.84 $\pm$ 163.54
P with Group 2		0.01	0.035	
PLT, $10^9/l$	206.27 $\pm$ 19.21	220.36 $\pm$ 23.44	213.12 $\pm$ 14.68	274.68 $\pm$ 18.12
P with Group 2	0.014		0.011	
MPV, fl	8.34 $\pm$ 0.22	8.2 $\pm$ 0.32	8.43 $\pm$ 0.18	8.62 $\pm$ 0.21
P with Group 2				

Note: RBC – red blood cells; MCHC – mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV – mean corpuscular volume; WBC – white blood cells; ANC – absolute neutrophils count; PLT – platelets; MPV – mean platelets volume

was lower in the newborns who received antibiotics than in the children who did not receive them. At the same time, a significantly lower value was found for Group 1 in comparison with Group 2 ($p = 0.016$). The MCHC parameter reflected the saturation of erythrocytes with hemoglobin. Its value tended to decrease in Group 1b children, but not significant. A similar picture was observed for the mean erythrocyte volume, MCV. The MCV value was smaller for the antibiotic-treated groups of children, but not significant. Analysis of the total number of leukocytes showed their lower value in Group 1a, Group 1b, Group 1 in comparison with Group 2. However, only for the pairs of Group 1b and Group 2, Group 1 and Group 2 the differences were significant ($p = 0.043$ and $p = 0.019$ respectively). The magnitude of the absolute number of neutrophils had a similar trend. It was smaller in children who received antibiotics. This confirmed a significantly lower ANC value but already in Group 1b children – $6366,28 \pm 178,23$ units in comparison with Group 2 – 7032.84 ± 163.54 units ($p = 0.01$) and in Group 1 – $6579,21 \pm 130,19$ units in comparison with Group 2 ($p = 0.035$). Platelet counts also decreased in children receiving antibiotic therapy. The PLT value was significantly lower in the newborns of Group 1a – $206.27 \pm 19.21 \cdot 10^9/l$ and Group 1 – $213,12 \pm 14,68 \cdot 10^9/l$ in comparison with the indexes Group 2 – $274.68 \pm 18.12 \cdot 10^9/l$ ($p = 0.014$ and $p = 0.011$ respectively). The average platelet volume did not show significant differences in the study groups. There was a tendency to its lower values in children treated with antibiotics, but not significant ($p > 0.05$).

Thus, the analysis of blood parameters showed a decrease in erythrocytes, leukocytes and platelets in children in the groups that received antibiotic therapy. In the case of the parameter of the white blood cells and absolute number of neutrophils, a significant decrease was observed for children who received 2 antibacterial drugs first of all.

To determine the magnitude of the chances of developing a decrease in the number of blood cells during antibiotic therapy (AB), the odds ratio was calculated (Figure 1). For erythrocytes, the reference value of the lower limit of the norm for the corresponding age and gestational age was used [13, 14]. The OR value was 3.56 units with a p value of 0.003. This indicated a 3.5-fold increase in the chances of erythropenia with antibiotics used. The calculation of the odds ratio for the likelihood of leukopenia was carried out in a similar way. The reference value of the lower limit of the norm was taken for age and gestational age. In this case, the OR value was 5.34 units with a p value of 0.03. Thus, leukopenia developed 5.34 times more often with antibiotic therapy than without it. A preliminary analysis showed that the absolute number of neutrophils for the general group of children in the main group will not show neutropenia at the lower limit of the norm. Therefore, the average value of the norm for age and gestational age was taken. In this case, the odds ratio was 3.81 units, but it was not reliable ($p = 0.19$). However, when taking the results of the ANC study in children who received 2 antibiotics,

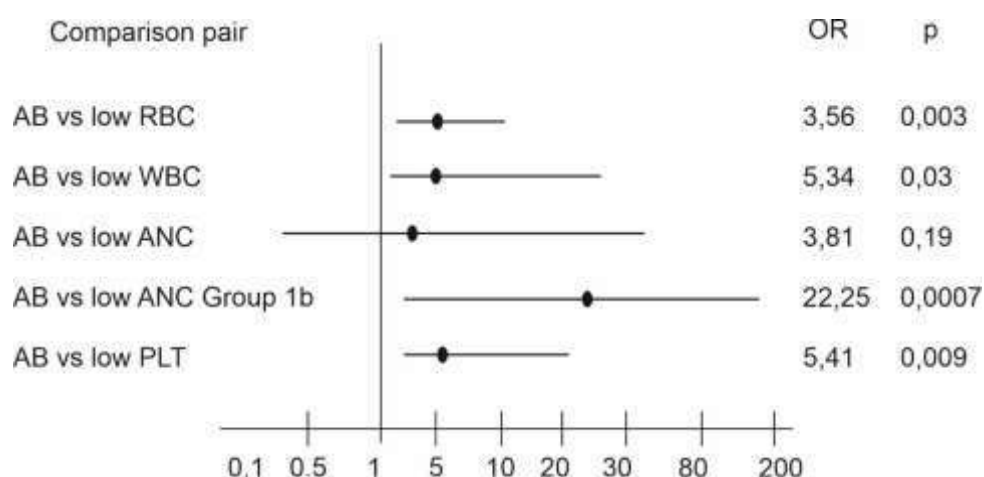


Figure 1 – Dependence of the CBC changes and antibiotics use

the OR value was higher. The OR was 22.25 units with a p value of 0.0007. Thus, a decrease in the level of neutrophils occurred, but largely depended on the use of 2 antibiotics. The level of platelets in the main group decreased, however, just as for the ANC, the number of cases of decrease below the 5th percentile of the reference value was low. The mean platelet count was also taken for age and gestational age. In this case, the value of the odds ratio was 5.41 units with a value of $p = 0.009$.

Discussion

Adverse drug events (ADEs) have been known since the early days of medication. ADEs can damage many organs and systems, including the blood system, with development of the pancytopenia. Drugs that can lead to blood ADEs can be cytostatics, antiepileptics, antidepressants, and antibiotics [2, 5, 15]. It is indicated that adverse drug events can be detected in 19–51% of children who received intravenous antibiotics [6, 7, 8]. The most significant of these may be neutropenia, which is more often observed with intravenous administration. Anemia was 2–3 times less common, and thrombocytopenia was even less common [12]. Other authors indicate the development of hemolytic anemia and thrombocytopenia in patients receiving carbopenems [15, 16]. Other works describe a high frequency of agranulocytosis, which with a

frequency of 12% can be caused by beta-lactam antibiotics [9]. According to other researchers, thrombocytopenia is an important component of adverse drug events and antibiotics are responsible for the implementation of at least 2 mechanisms of antibody formation with the development of drug-induced immune thrombocytopenia [10, 11]. In our study, the odds ratio of 3.56 and 5.34 units were identified for the development of erythrocytopenia and leukocytopenia respectively, which, to a certain extent, corresponds to the available literature data. However, this cannot be said about the level of granulocytes. According to our analysis, the decrease in the absolute number occurred with an increase in chances of 3.81, depending on the appointment of antibiotic therapy, but not significantly. However, when calculating the odds ratio in the group of newborns who received 2 antibiotics, OR was the highest – prescribing AB in 22 times increased the chances of a decrease in the absolute number of neutrophils. The degree of platelet reduction, according to our data, was still less than the rest of the studied blood cells. Perhaps this depended on the characteristics of the identified groups of newborns or/and the characteristics of the laboratory complex. The degree of platelet reduction was less, but relative to the average value, the chances of a decrease in their level with antibiotic therapy increased 5.41 times.

Conclusions/Висновки

In general, antibiotic therapy leads to a decrease in the number of erythrocytes, leukocytes, platelets.

Leukocytes were found to have the greatest chances of decreasing from the normative level –

by 5.34 times, as well as erythrocytes – by 3.56 times. The absolute number of neutrophils decreased with the greatest chances when 2 antibiotics were administered – by 22 times.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research suggest conducting a study on a large sample of patients.

References/Список літератури

1. Ree IMC, Fustolo-Gunnink SF, Bekker V, Fijnvandraat KJ, Steggerda SJ, Lopriore E. Thrombocytopenia in neonatal sepsis: Incidence, severity and risk factors. *PLoS One*. 2017;12(10):e0185581. doi:10.1371/journal.pone.0185581
2. Hussain K, Salat MS, Mohammad N, et al. Meropenem-induced pancytopenia in a preterm neonate: a case report. *J Med Case Reports*. 2021;15(1):25. doi:10.1186/s13256-020-02632-1
3. Goldenberg JZ, Lytvyn L, Steurich J, Parkin P, Mahant S, Johnston BC. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;(12):CD004827. doi:10.1002/14651858.CD004827.pub4
4. Hayes SR, Vargas AJ. Probiotics for the Prevention of Pediatric Antibiotic-Associated Diarrhea. *Explore (NY)*. 2016;12(6):463-466. doi:10.1016/j.explore.2016.08.015

5. Leger RM, Arndt PA, Garratty G. Serological studies of piperacillin antibodies. *Transfusion*. 2008;48(11):2429-2434. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.01852.x
6. Madigan T, Banerjee R. Characteristics and outcomes of outpatient parenteral antimicrobial therapy at an academic children's hospital. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32(4):346-349. doi:10.1097/INF.0b013e31827ee1c2
7. Akar A, Singh N, Hyun DY. Appropriateness and safety of outpatient parenteral antimicrobial therapy in children: opportunities for pediatric antimicrobial stewardship. *Clin Pediatr (Phila)*. 2014;53(10):1000-1003. doi:10.1177/0009922813507999
8. Olson SC, Smith S, Weissman SJ, Kronman MP. Adverse Events in Pediatric Patients Receiving Long-Term Outpatient Antimicrobials. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2015;4(2):119-125. doi:10.1093/jpids/piu037
9. Ibáñez L, Vidal X, Ballarín E, Laporte JR. Population-based drug-induced agranulocytosis. *Arch Intern Med*. 2005;165(8):869-874. doi:10.1001/archinte.165.8.869
10. George JN, Aster RH. Drug-induced thrombocytopenia: pathogenesis, evaluation, and management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. Published online 2009:153-158. doi:10.1182/asheducation-2009.1.153
11. Arnold DM, Kukaswadia S, Nazi I, et al. A systematic evaluation of laboratory testing for drug-induced immune thrombocytopenia. *J Thromb Haemost*. 2013;11(1):169-176. doi:10.1111/jth.12052
12. Murphy JL, Fenn N, Pyle L, et al. Adverse Events in Pediatric Patients Receiving Long-term Oral and Intravenous Antibiotics. *Hosp Pediatr*. 2016;6(6):330-338. doi:10.1542/hpeds.2015-0069
13. Christensen RD, Del Vecchio A, Henry E. Expected erythrocyte, platelet and neutrophil values for term and preterm neonates. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25(Suppl 5):77-79. doi:10.3109/14767058.2012.715472
14. Henry E, Christensen RD. Reference Intervals in Neonatal Hematology. *Clin Perinatol*. 2015;42(3):483-497. doi:10.1016/j.clp.2015.04.005
15. Oka S, Shiragami H, Nohgawa M. Intravascular hemolytic anemia in a patient with antibodies related to meropenem. *Intern Med*. 2015;54(10):1291-1295. doi:10.2169/internalmedicine.54.3385
16. Huang R, Cai GQ, Zhang JH, et al. Meropenem-induced immune thrombocytopenia and the diagnostic process of laboratory testing. *Transfusion*. 2017;57(11):2715-2719. doi:10.1111/trf.14267

(received 13.11.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 13.11.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Сергій Віталійович Попов, ORCID: 0000-0002-1789-1474; Сумський державний університет, професор кафедри педіатрії, Суми, Україна.

Олександр Іванович Сміян, ORCID: 0000-0001-8225-0975; Сумський державний університет, завідувач кафедри педіатрії, Суми, Україна.

Олена Геннадіївна Васильєва, ORCID: 0000-0003-4470-8740, Сумський державний університет, асистент кафедри педіатрії, Суми, Україна.

Людмила Анатоліївна Юсюк, завідувачка відділення інтенсивної терапії новонароджених дітей з ліжками постінтенсивного догляду КНП «СОП ОДКЛ».

Анастасія Олександрівна Профатило, ORCID 0000-0002-8032-7323, Сумський державний університет, аспірант кафедри педіатрії, Суми, Україна.

Тетяна Володимирівна Романенко, Сумський державний університет, лікар-інтерн, Суми, Україна.

Дмитро Андрійович Говорун, Сумський державний університет, студент, Суми, Україна.



Abstract

¹Viktoriia M. Holubnych,
ORCID: 0000-0002-1241-2550

²Viktoriia V. Korniienko
ORCID: 0000-0002-5144-2138

^{2,4}Yevheniia V. Husak
ORCID: 0000-0002-2217-3717

⁵Viktoriia O. Fedorenko
ORCID 0000-0002-8616-641X

¹Olesia I. Tverezovska
ORCID: 0000-0003-4226-9895

¹Tetiana V. Ivakhniuk
ORCID: 0000-0001-5851-2218

³Yuliia V. Varava
ORCID: 0000-0002-1007-3743,

¹Department of Public Health, Academic and Research Medical Institute, Sumy State University, Sumy, Ukraine;

²Center of Scientific Equipment Collective Use, Academic and Research Medical Institute, Sumy, Ukraine;

³Academic and Research Medical Institute, Sumy, Ukraine;

⁴Silesian University of Technology, Faculty of Chemistry, 44-100 Gliwice, Poland;

⁵University of Latvia, Riga LV 1586, Latvia

ANTIBACTERIAL INFLUENCE OF SILVER NANOPARTICLES ON MULTI-RESISTANT STRAINS OF *K. PNEUMONIAE* ISOLATED AT HOSPITALS

Introduction. Overuse and misuse of antibiotics in humans, animals, and agriculture has led to the widespread rise of antibiotic resistance and strengthened nosocomial pathogenes' impact. *Klebsiella pneumoniae* became an increasing threat to public health. Nanomaterials are promising alternatives to conventional antibiotics in the fight against multi-resistant germs. Silver nanoparticles are well-known metallic nanoparticles with antimicrobial activity.

Our research aimed to evaluate the spreading of *K. pneumonia* resistant to antibiotics at hospital and assess the effectiveness of Ag NPs against multi-resistant clinical strains of *K. pneumoniae*.

Material and methods. *K. pneumoniae* strains were isolated and identified with the use of conventional bacteriological techniques. Susceptibility of the microorganisms was assessed to inhibitors of β -lactamases, carbapenems, macrolides, oxazolidinones, and other groups of antibiotics with use Kirby-Bauer disk diffusion method. The capability of AgNPs to inhibit attachment and multiplication of the *K. pneumoniae* multi-resistant strains was tested with the use of serial microdilution method, resazurin assay, and SEM.

Results. *K. pneumoniae* was isolated from 13.7% of samples predominantly at the microbial association (97.5%). The microorganisms were resistant to five or more antibiotics in 73.2% of cases. AgNPs possess antimicrobial activity against tested strains at concentrations varied from 1.25 $\mu\text{g/ml}$ to 2.5 $\mu\text{g/ml}$ and kill all germs in 3 hours of incubation. AgNPs inhibited biofilm formation at initial stages and destroyed the mature (2 days) biofilm with Ag NPs treatment at concentrations 20-40 $\mu\text{g/ml}$. The effectiveness of mature *K. pneumoniae* biofilm treatment with AgNPs depended on biofilm age. The SEM images of the two-days biofilm reveal lysis of the bacterial cells after the cocultivation with Ag NPs but SEM analysis detected the maintaining of the three-dimensional structure in the case of a five-day biofilm after cocultivation with AgNPs.

Conclusions. The distribution of *K. pneumonia* among patients with laryngeal pathology and its sensitivity to eleven antibiotics were examined. There was revealed the high rate of *K. pneumonia* multi-resistant strains. Ag NPs have strong antibacterial and anti-

biofilm potential against multi-resistant *K. pneumoniae*. Therefore, our results highlight that the Ag NPs have promising antimicrobial and anti-biofilm abilities against multi-resistant clinical strains of *K. pneumoniae*.

Keywords: antimicrobial activity, silver nanoparticles, antibiotic, sensitivity, *K. pneumoniae*.

Corresponding author:

Viktoriia M. Holubnychy, Department of Public Health, Academic and Research Medical Institute, Sumy State University, Sumy, Ukraine
e-mail: v.golubnichaya@med.sumdu.edu.ua

Резюме

¹Вікторія М. Голубнича

ORCID: 0000-0002-1241-2550

²Вікторія В. Корнієнко

ORCID: 0000-0002-5144-2138

^{2,4}Євгенія В. Гусак

ORCID: 0000-0002-2217-3717

⁵Вікторія О. Федоренко

ORCID 0000-0002-8616-641X

¹Олеся І. Тверезовська

ORCID: 0000-0003-4226-9895

¹Тетяна В. Івахнюк

ORCID: 0000-0001-5851-2218

³Юлія В. Варава

ORCID: 0000-0002-1007-3743

¹Кафедра громадського здоров'я, Навчально-науковий медичний інститут, Сумський державний університет, Суми, Україна;

²Центр колективного користування науковим обладнанням, Навчально-науковий медичний інститут, Суми, Україна;

³Навчально-науковий медичний інститут, Суми, Україна;

⁴Сілезійський технологічний університет, Факультет хімії, 44-100 Глівіца, Польща;

⁵Латвійський університет, 1586, Рига, Латвія

АНТИБАКТЕРІАЛЬНИЙ ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА НА ПОЛІРЕЗИСТЕНТНІ КЛІНІЧНІ ШТАМИ *K. PNEUMONIAE*

Вступ. Надмірне та неправильне використання антибіотиків для лікування людей, тварин та в сільському господарстві призвело до широкого зростання антибіотикорезистентності та посилення ролі внутрішньолікарняних патогенів. *Klebsiella pneumoniae* стає все більшою загрозою для здоров'я населення. Наноматеріали є перспективною альтернативою звичайним антибіотикам у боротьбі з мультирезистентними мікробами. Наночастинки срібла є добре відомими металеві наночастинки з антимікробною активністю.

Метою нашого дослідження було оцінити поширення стійких до антибіотиків штамів *K. pneumoniae* серед пацієнтів та оцінити антимікробну ефективність НЧ Ag щодо мультирезистентних клінічних штамів *K. pneumoniae*.

Матеріали та методи. Штами *K. pneumoniae* були виділені та ідентифіковані з використанням класичного бактеріологічного методу. Чутливість мікроорганізмів до інгібіторів β-лактамаз, карбопенемів, макролідів, оксазолідонів та інших груп антибіотиків оцінювали диско-дифузійним методом Кірбі-Бауера. Здатність НЧ Ag пригнічувати прикріплення та розмноження мультирезистентних штамів *K. pneumoniae* перевіряли із використанням методу серійних розведень, тесту на редукцію резазурину та СЕМ.

Результати. *K. pneumoniae* було виділено з 13,7 % зразків, переважно в мікробних асоціаціях (97,5 %). У 73,2 % випадків мікроорганізми були стійкі до п'яти та більше антибіотиків. НЧ Ag демонстрували антимікробну активність проти досліджуваних штамів у концентрації від 1,25 мкг/мл до 2,5 мкг/мл та спричинювали загибель усіх мікроорганізмів через 3 години інкубації. НЧ Ag інгібували утворення біоплівки на початкових етапах та руйнували зрілу (2-х денну) біоплівку у концентрації 20–40 мкг/мл. Ефективність антибіоплівкової дії срібла залежала від віку плівок, утворених *K. pneumoniae*. На СЕМ зображеннях 2-х денних плівок наявний лізис бактеріальних клітин, у той же час аналіз 5-ти денних біоплівок виявив збереження трьохмірної структури.

Висновки. У цьому дослідженні вивчено поширення *K. pneumoniae* серед пацієнтів з ларингологічною патологією та визначено чутливість мікроорганізмів до одинадцяти антибіотиків. Виявлено високий рівень мультирезистентності серед штамів

K. pneumoniae. НЧ Ag мають потужний антибактеріальний та антибіоплівковий потенціал проти мультирезистентних *K. pneumoniae*. Таким чином, наші результати підкреслюють, що НЧ Ag мають багатобіючі антимікробні та антибіоплівкові властивості проти мультирезистентних клінічних штамів *K. pneumoniae*.

Ключові слова: антимікробна активність, наночастинки срібла, антибіотик, чутливість, *K. pneumoniae*.

Автор, відповідальний за листування:

Вікторія М. Голубнича, кафедра громадського здоров'я, Навчально-науковий медичний інститут, Сумський державний університет, Суми, Україна
e-mail: v.golubnichaya@med.sumdu.edu.ua

How to cite/ Як цитувати статтю: Holubnycha VM, Korniienko VV, Husak YeV, Tverezovska OI, Ivakhnuk TV, Varava YuV. Antibacterial influence of silver nanoparticles on multi-resistant strains of *K. pneumoniae* isolated at hospitals. *EUMJ*. 2021;9(4):332-341
DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):332-341](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):332-341)

Introduction/Вступ

Klebsiella pneumoniae is one of the increasingly challenging species among *Enterobacteria spp.* The bacteria are often detected in foods, sewage, soil, plants, and the gastrointestinal tracts of animals [1]. It takes the second position after *E. coli* as a pathogen responsible for various community-associated and nosocomial infections [2]. The pathogen is responsible for a comprehensive list of human diseases ranging from wound infections to septicemia, and these infections may impact human health. Inadequate use of antibiotics facilitates the formation of broad-spectrum drug resistance among microorganisms. It leads to a rise in hospital-associated infections numbers, and it increases the mortality and financial burden on public health as well [3]. Several studies indicate *K. pneumoniae* is associated with high rates of antibiotic resistance [4]. In spite of the importance *K. pneumoniae* as nosocomial pathogen, the data about its meaning as a causative agent and susceptibility to antimicrobial substances are limited [5]. It is also known as a pathogen with a high capability to biofilm formation due to various virulence factors [6]. Infections caused by biofilm-forming bacteria are difficult to treat; therefore, searching for new antimicrobials with antibiofilm activity is a hot topic for public health.

Applying new approaches and new materials in medical practice is crucial to dealing with antibiotic resistance. The antimicrobial properties of metals have been known for a long time. However, their use as antimicrobials was limited due to their toxicity. Due to the development of nanomedicine, the interest in nanometals, especially silver and its salts,

has increased. Silver nanoparticles possess several antimicrobial mechanisms; thus, bacteria can form the resistance slightly [7]. Apart from that, the metals are stable under conditions currently found in the industry. Over the past few decades, there was a huge rise in information on AgNPs antimicrobial activity [8]. However, several unresolved issues still stay. There are several drawbacks such as an easy aggregation of nanoparticles, the uncontrolled release of silver ions, and poor stability of solution that need to be solved.

Thus, the purpose of our research was to evaluate the spreading of *K. pneumoniae* strains resistant to antibiotics at hospitals and assess the antimicrobial effectiveness of the Ag NPs against them.

Material and methods. During 2019–2021, we examined 300 samples from patients with laryngeal pathology. Patients were comprehensively examined following standards of care. To determine the microbial profile of the examined biotopes microbiological study of nasopharyngeal smears was performed in the bacteriological lab of Sumy State University. The sensitivity of the microbes to antibiotics was assessed with the use Kirby-Bauer method on Muller-Hinton agar. Antimicrobial susceptibility was assessed to inhibitors of β -lactamases, carbapenems, macrolides, oxazolidinones, and other groups with the use of the recommendation of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. To evaluate the influence of silver nanoparticles on the *K. pneumoniae* viability and biofilm formation, we selected multi-resistant microorganisms.

The AgNPs were prepared at NanoWave (Warsaw, Gdansk, Poland) and previously described [9] at 3 g/L silver concentration. Nanoparticles were cube-shaped with size from 80 nm to 800 nm and smaller silver nanoparticles of spherical shape adhered on it. EDX confirmed the chemical purity of obtained AgNPs with a residual quantity of Cl and Na.

The silver nanoparticles' antimicrobial activity against *K. pneumoniae* strains was examined with determination of the minimal inhibitory concentration (MIC), the kill kinetic, inhibition of biofilm formation, and influence on biofilm viability.

MIC was assessed with the use of the broth microdilution method. At first, the serial dilutions of the AgNPs were prepared, and 20 µl of each concentration was put into a polystyrene 96-well plate. Inoculum of the fresh cultures of *K. pneumoniae* was prepared in Mueller-Hinton broth at concentration 5×10^5 CFU/ml. Then 180 µl of bacterial suspension was added to the silver solution to reach the desired concentrations (0.31–40 µg/ml). Plates were incubated at 37 °C for 24 h. The assays were performed in triplicate. The MIC was the lowest concentration of the AgNPs completely inhibited visual growth of germs.

The time-dependent dynamic of bacteria-killing was conducted at bacteria concentration 5×10^5 CFU/ml and AgNPs concentration equal MIC. Bacteria incubation in Muller-Hinton broth at 37 °C has followed the aliquots (10 µl) inoculation from each well onto Mueller-Hinton agar in 1, 3, 6, 12, 24 hours. Then formed colonies were counted.

The influence of AgNPs on biofilm formation was detected by assessing the formed biofilm biomass with gentian violet staining. The bacteria were incubated in 96-well microtiter plates containing AgNPs solutions at the half and 1 MIC concentrations for 24 hours. Then non-adherent cells were removed from the plate, and the biofilm mass attached to the wells was stained with 0.1% crystal violet (30 minutes). After that, the dye was dissolved with ethanol. The optical density of solubilized crystal violet was measured by the Thermo Scientific Multiscan FC microplate photometer ESW 1.01.16 (wavelength 595 nm). All tests were done in triplicate. The coefficient of the microbial biomass reduction was calculated as a proportion of the optical density of the tested sample to the optical density of control in the percentage equivalent.

The microorganisms were incubated initially for different time intervals (48 and 120 hours) to examine the silver nanoparticles effect on preformed biofilms. Then AgNPs at concentrations 10, 20, 30, and 40 µg/ml were added to the wells and incubated for 24 h. It was followed the resazurin assay and crystal violet staining. The percentage of cell viability was calculated according with protocol provided by manufacturer.

AgNPs action on the biofilms structures was assessed with SEM. The glass slides were submerged into inoculums of *K. pneumoniae* in Mueller-Hinton broth and were incubated for 0, 48, 120 h. After that, glass slides were incubated with AgNPs at concentrations 10, 20, 30, and 40 µg/ml for 24 h. Then they were fixed in 2.5% glutaraldehyde, washed in buffer, and dehydrated with a series of 50, 70, 90, and 100% ethanol. The glass slides were coated with silver and examined under scanning electron microscopy (SEM, Hitachi S-3000N).

One-way ANOVA multiple comparisons with the Tukey's post-hoc analysis was used to assess the difference between groups using GraphPad Prism 8.0 software. p value of < 0.05 was considered statistically significant.

Results. We have examined 300 samples from patients with laryngeal pathology and isolated 41 strains of *K. pneumoniae* (13.7%). The microorganisms were isolated predominantly in a microbial association in 97.5%. The *K. pneumoniae* was associated with gram-positive (*Staphylococcus spp.*, *S. pyogenes*), gram-negative (*Enterobacterium spp.*, *P. aeruginosa*) bacteria, and *C. albicans*. According to antibiotic resistance profiles (Fig. 1), all tested strains of *K. pneumoniae* were susceptible to Levofloxacin and Imipenem. The biggest amount of *K. pneumoniae* strains were resistant to Azitromycin (9.1%). Analyses of antibiotic-resistant profile revealed that 73.2% of isolates were resistant against five or more antibiotics, and almost a quarter of strains was resistant to carbapenem (Imipenem).

The evaluation of the AgNPs antimicrobial activity against the tested strains revealed the MIC varied from 1.25 µg/ml to 2.5 µg/ml. The increase of AgNPs concentration in 2 times caused the total killing of microbes. The time-kill kinetics profile of AgNPs against *K. pneumoniae* at MICs demonstrates a gradual drop of the viable cells numbers over the experimental time. The numbers of bacteria cells reach 0 log₁₀ CFU/ml to 3 h incubation (Fig. 2)

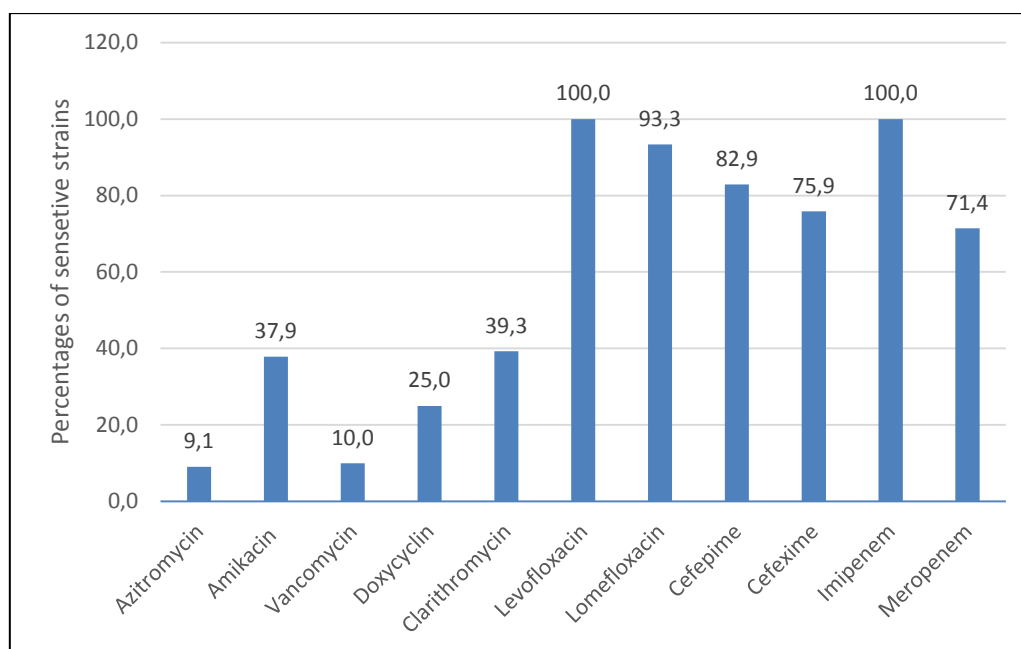


Figure 1 – *K. pneumoniae* antibiotics susceptibility profile

Examination of the antibiofilm effectiveness for AgNPs at 0.5 and 1 MIC was performed on the initial attachment and maturation stages. Evaluation of the AgNPs' ability to inhibit adhesion and a biofilm formation with *K. pneumoniae* at

concentrations 0.5 and 1.0 MIC on the initial stage showed a slight decrease in the biofilm mass and quantity of living cells compared with non-treated bacteria (Fig. 3).

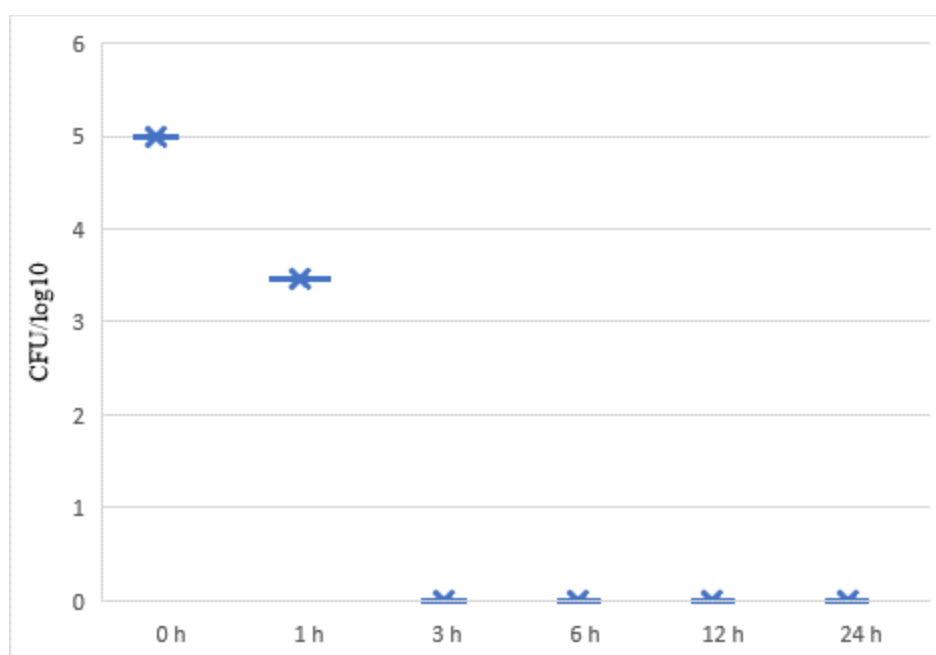


Figure 2 – Time-dependent bactericidal activity of the tested silver nanoparticles against *K. pneumoniae*

The effectiveness of mature *K. pneumoniae* biofilm treatment with AgNPs depended on biofilm age (Fig.4). It was found the decrease of the biofilm mass by an average of 60% at concentration 20–

40 µg/ml. However, there were no differences in *K. pneumoniae* biofilm mass and cell viability on five days biofilm.

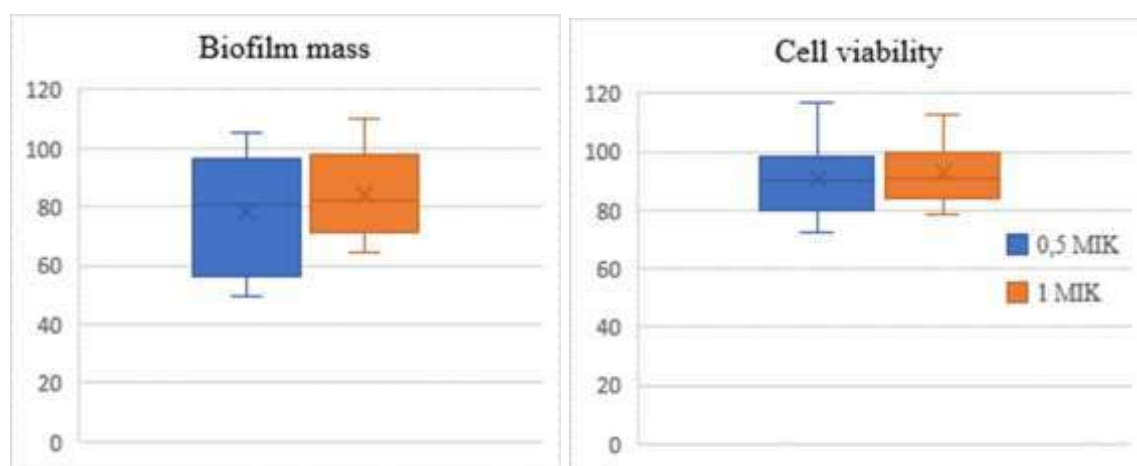


Figure 3 – The percentage of *K.pneumoniae* biofilm mass and cell viability after treatment with AgNPs at concentration 0.5 and 1.0 MIC on initial stage

The SEM micrographs (Fig. 5) of initial stage biofilm formation at the control group show bacteria adhering tightly to each other. Observation of the bacterial clusters at second- and fifth-day

biofilm showed bacteria tethered to each other by a fibrillar network composed of copious amounts of long, flexible pili that extended several microns away from the bacteria.

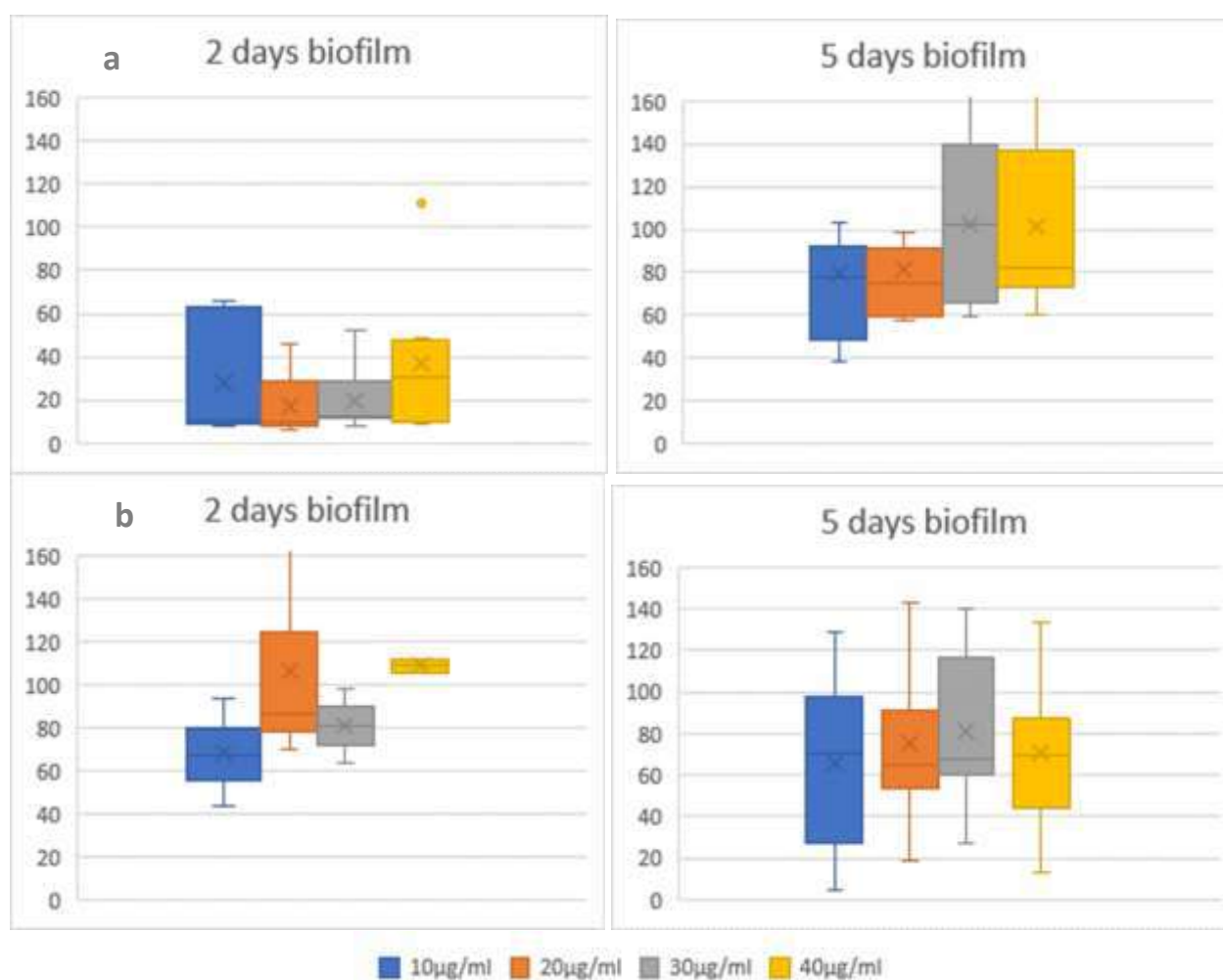


Figure 4 – The percentage of *K.pneumoniae* biofilm mass (a) and cell viability (b) after mature biofilm treatment with AgNPs

The obtained micrograph indicates a considerable reduction in biofilm in the initial attachment stage. In the case of primary cocultivation of the AgNPs and *K. pneumoniae* we detected only the single bacterial cells attached to the surface. These data show that AgNPs decreased the biofilm-forming ability. It could be caused by inhibition of bacteria multiplication or bacterial adhesion.

The images of the two-day biofilm reveal lysis of the bacterial cells after the cocultivation with Ag NPs. The membrane integrity of *K. pneumoniae* was violated in the presence of AgNPs. SEM analysis detected the maintaining of the three-dimensional structure in the case of a five-day biofilm after co-cultivation with AgNPs.

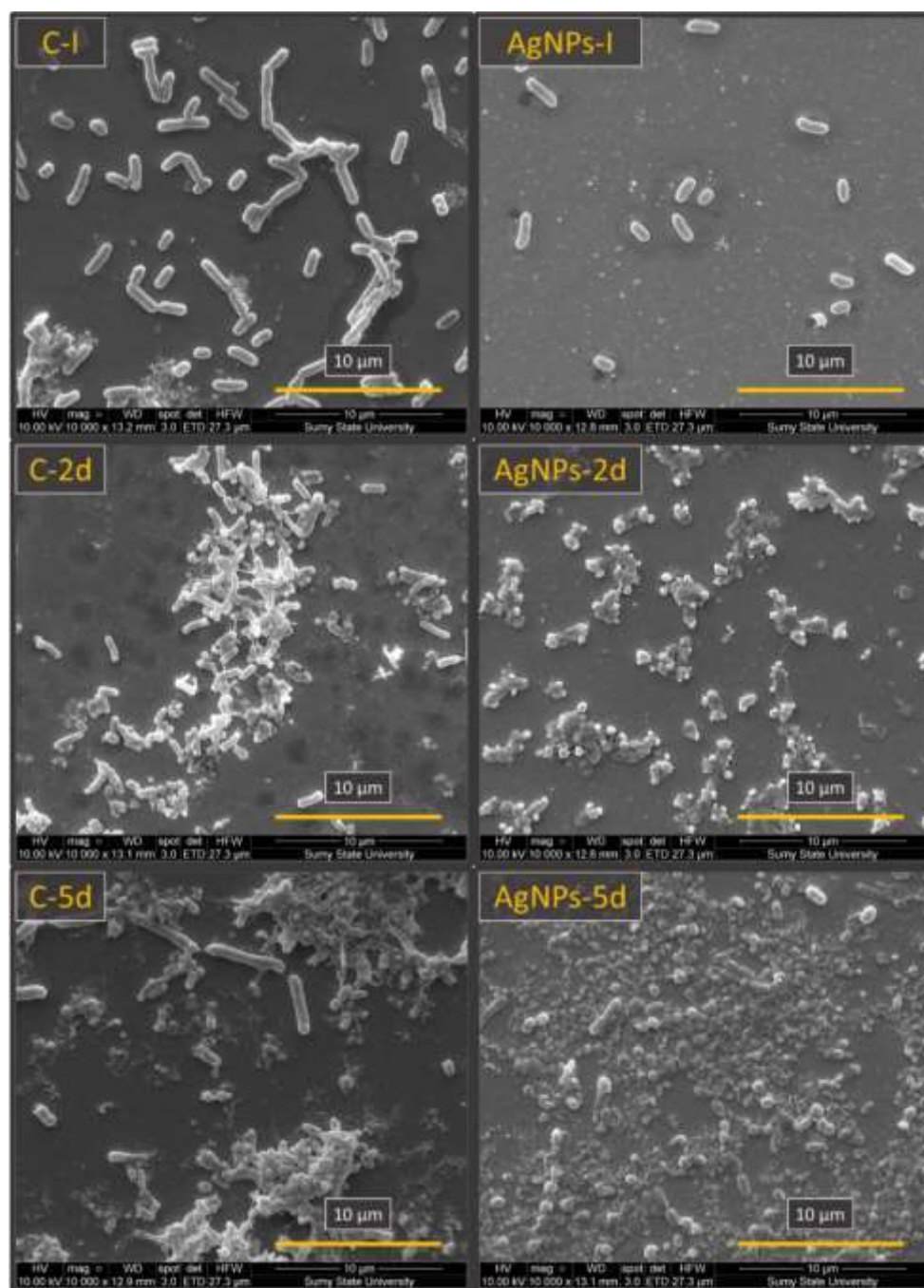


Figure 5 – Scanning electron micrographs of *K. pneumoniae* biofilms formed on the glass (37 °C) at different time intervals after 24 h (0d), 48 h (2d) and 120 h (5d)

K – Control, AgNPs - treated with 20 µg/ml of silver nanoparticles

Discussion. Many studies indicated the threat of antimicrobial resistance as a complex affected patients, healthcare, and economy in all countries [10]. The ESKAPE pathogens cause concern due to their capacity to escape from antimicrobial therapy, increased duration of treatment, and financial burden on public health [11]. Currently, *K. pneumoniae* is one of the most important species among gram-negative microbes of this group. In this work, we have examined the distribution of *K. pneumoniae* strains among patients with laryngeal pathology. We isolated the bacteria mostly in association from 13.7% of samples. Three-quarters of isolates were multi-resistant. Hera Nirvati et al. [12] isolated a bit higher numbers of *K. pneumoniae* (17.36%), but there was a lower level of antibiotic resistance (54.49%).

According to Hemeg [13], Ag NPs possess a greater surface area, leading to a more controlled release of Ag⁺ and could be a promising antibacterial compound. We have examined the cubic shape AgNPs on the antimicrobial activity against the multi-resistant clinical strains of *K. pneumoniae*. It was revealed the antibacterial effectiveness of AgNPs at concentration 1.25–2.5

µg/ml in 3 hours of cocultivation with *K. pneumoniae*. MIC of tested AgNPs was lower than it was reported by Pareek et al. [14].

K. pneumoniae possesses the ability to form biofilms that is central to their pathogenicity. A sticky capsule and several adhesive fimbrial or non-fimbrial adhesins are essential to biofilms formation [15]. The investigation of AgNPs anti-biofilm activity showed its slight inhibition effect on biofilm formation at initial stages. We have also detected the destruction of the mature (2 days) biofilm with Ag NPs treatment at concentrations 20–40 µg/ml. The AgNPs used in our experiment demonstrated higher effectiveness than G. Rajivgandhi et al. reported it [16], who describe the *K. pneumoniae* antibiofilm effectiveness at concentration 50–100 µg/ml. It is known that Ag NPs interact with the microbial surface and may lead to the disruption of the cell membrane. Our SEM data confirm this on a two-day biofilm, but the absence of AgNPs effectiveness was detected against a five-day biofilm. Obviously, there is a need to further investigate the mechanisms and substances that protect *K. pneumoniae* mature biofilm.

Conclusions/Висновки

In this study, the distribution of the *K. pneumoniae* among patients with laryngeal pathology and its sensitivity to eleven antibiotics was examined. There was revealed the high rate (73.2%) of *K. pneumoniae* multi-resistant strains. Ag NPs has strong antibacterial and antibiofilm

potential against multi-resistant *K. pneumoniae*. Therefore, our results highlight that the Ag NPs have promising antimicrobial and anti-biofilm abilities against multi-resistant clinical strains of *K. pneumoniae*.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

The further investigation of the AgNPs effect on the mature biofilms formed by *K. pneumoniae* will provide us with new knowledge.

References/Список літератури

1. Håkonsholm F, Hetland MAK, Svanevik CS, Sundsfjord A, Lunestad BT, Marathe NP. Antibiotic sensitivity screening of *Klebsiella* spp. and *Raoultella* spp. isolated from marine bivalve molluscs reveal presence of CTX-M-producing *K. Pneumoniae*. *Microorganisms*. 2020;8(12):1909. doi: 10.3390/microorganisms8121909
2. Vading M, Naucleur P, Kalin M, Giske CG. Invasive infection caused by *Klebsiella pneumoniae* is a disease affecting patients with high comorbidity and associated with high long-term mortality. *PLoS One*. 2018;13(4):e0195258. doi: 10.1371/journal.pone.0195258
3. Hernando-Amado S, Coque TM, Baquero F, Martínez JL. Antibiotic Resistance: Moving From Individual Health Norms to Social Norms in One Health and Global Health. *Front Microbiol*. 2020;11:1914. doi: 10.3389/fmicb.2020.01914
4. Ayatollahi J, Sharifyazdi M, Fadakarfarid R, Hosseini S. Antibiotic resistance pattern of *Klebsiella pneumoniae* in obtained samples from Ziaee Hospital of Ardakan. Yazd, Iran

- during 2016 to 2017. *Iberoamerican Journal of Medicine*. 2020;02:32–36.
5. Le T, Wang L, Zeng C, Fu L, Liu Z, Hu J. Clinical and microbiological characteristics of nosocomial, healthcare-associated, and community-acquired *Klebsiella pneumoniae* infections in Guangzhou, China. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2021;10(1):41. doi: 10.1186/s13756-021-00910-1
 6. Siddique MH, Aslam B, Imran M, Ashraf A, Nadeem H, Hayat S, Khurshid M, Afzal M, Malik IR, Shahzad M, Qureshi U, Khan ZUH, Muzammil S. Effect of Silver Nanoparticles on Biofilm Formation and EPS Production of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Biomed Res Int*. 2020;2020:6398165. doi: 10.1155/2020/6398165
 7. Galatage ST, Hebalkar AS, Dhobale SV, Mali OR, Kumbhar PS, Nikade SV, Killedar SG. Silver Nanoparticles: Properties, Synthesis, Characterization, Applications and Future Trends. *Silver Micro-Nanoparticles - Properties, Synthesis, Characterization, and Applications*. 2020. doi: 10.5772/intechopen.99173
 8. Xu L, Wang YY, Huang J, Chen CY, Wang ZX, Xie H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*. 2020;10(20):8996-9031. doi: 10.7150/thno.45413
 9. Myronov P, Sulaieva O, Korniienko V et al. Combination of Chlorhexidine and Silver Nanoparticles: an Efficient Wound Infection and Healing Control System. *BioNanoSci*. 2021;11(6):256–268. doi: 10.1007/s12668-021-00834-5
 10. Dadgostar P. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infect Drug Resist*. 2019;12:3903-3910. doi: 10.2147/IDR.S234610
 11. Marturano JE, Lowery TJ. ESKAPE Pathogens in Bloodstream Infections Are Associated With Higher Cost and Mortality but Can Be Predicted Using Diagnoses Upon Admission. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(12):ofz503. doi: 10.1093/ofid/ofz503
 12. Nirwati H, Sinanjung K, Fahrulnissa F, Wijaya F, Napitupulu S, Hati VP, Hakim MS, Meliala A, Aman AT, Nuryastuti T. Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. *BMC Proc*. 2019;13(Suppl 11):20. doi: 10.1186/s12919-019-0176-7
 13. Hemeg HA. Nanomaterials for alternative antibacterial therapy. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:8211-8225. doi: 10.2147/IJN.S132163
 14. Pareek V, Devineau S, Sivasankaran SK, Bhargava A, Panwar J, Srikumar S, Fanning S. Silver Nanoparticles Induce a Triclosan-Like Antibacterial Action Mechanism in Multi-Drug Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Front Microbiol*. 2021;12:638640. doi: 10.3389/fmicb.2021.638640
 15. Alcántar-Curiel MD, Blackburn D, Saldaña Z, Gayosso-Vázquez C, Iovine NM, De la Cruz MA, Girón JA. Multi-functional analysis of *Klebsiella pneumoniae* fimbrial types in adherence and biofilm formation. *Virulence*. 2013;4(2):129-38. doi: 10.4161/viru.22974
 16. Rajivgandhi GN, Ramachandran G, Maruthupandy M, Manoharan N, Alharbi NS, Kadaikunnan S, Khaled JM, Almanaa TN, Li WJ. Anti-oxidant, anti-bacterial and anti-biofilm activity of biosynthesized silver nanoparticles using *Gracilaria corticata* against biofilm producing *K. pneumoniae*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2020;600:124830. doi: 10.1016/j.colsurfa.2020.124830

(received 24.11.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 24.11.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements/Подяка

This research was supported by H2020 Marie Skłodowska-Curie Actions (NanoSurf 777926),

Grant of Ukrainian-Latvian Joint Programme of Scientific and Technological Cooperation Project



“Development of nanostructured optical sensor system for detection of *K. pneumonia*” (order №1184 from 05.11.21).

Special thank for Dr. R. Banasiuk who prepared and characterized the AgNPs.

Associated professor V. Holubnycha designed, worked and drafted the manuscript. Isolation, identification of *K. pneumoniae* from samples of

patients was performed by associated professor T. Ivakhnuk. Associated professor V. Korniienko and Yu. Varava assessed the antibacterial and antibiofilm effectiveness of AgNPs against *K. pneumoniae* strains. SEM of tested microorganism after AgNPs treatment was performed by Ye. Husak.

Information about the authors/Відомості про авторів

Вікторія Миколаївна Голубнича, ORCID 0000-0002-1241-2550, доцент кафедри громадського здоров'я, Навчально-науковий медичний інститут, Сумський державний університет, Суми, Україна, v.golubnichaya@med.sumdu.edu.ua, тел.: +380542660948

Вікторія Володимирівна Корнієнко, ORCID 0000-0002-5144-2138, старший науковий співробітник Центру колективного користування науковим обладнанням, Навчально-науковий медичний інститут, Суми, Україна, v.kornienko@med.sumdu.edu.ua, тел.: +380542660948

Євгенія Володимирівна Гусак, ORCID 0000-0002-2217-3717, молодший науковий співробітник Центру колективного користування науковим обладнанням, Навчально-науковий медичний інститут, Суми, Україна, e.gusak@med.sumdu.edu.ua, тел.: +380542660948

Федоренко Вікторія Олександрівна, ORCID 0000-0002-8616-641X, науковий співробітник лабораторії оптичних біосенсорів і функціональних наноматеріалів, Латвійський університет, Рига, Латвія, viktorii.fedorenko@lu.lv, тел.: +380973765747

Тверезовська Олеся Ігорівна, ORCID 0000-0003-4226-9895, аспірант кафедри громадського здоров'я, Навчально-науковий медичний інститут, Суми, Україна, apereshyvailo@gmail.com, тел.: +380542660948

Тетяна Василівна Івахнюк, ORCID 0000-0001-5851-2218, доцент кафедри громадського здоров'я, Навчально-науковий медичний інститут, Сумський державний університет, Суми, Україна, t.ivakhnjuk@med.sumdu.edu.ua, тел.: +380542660948

Юлія Валентинівна Варава, ORCID 0000-0002-1007-3743, студентка групи ЛС 611, Навчально-науковий медичний інститут, Суми, Україна, yuliiia.varava@gmail.com

Abstract

Nataliia L. Tsyndrenko
ORCID: 0000-0001-6763-476X
Anatolii M. Romaniuk
ORCID: 0000-0003-2560-1382
Yana R. Nikolayenko

*Department of Pathology, Sumy
State University, Sumy, Ukraine*

**CLINICAL, MORPHOLOGICAL, AND EPIDEMIOLOGICAL
CHARACTERISTICS OF ENDOMETRIAL HYPERPLASTIC
PROCESSES IN SUMY REGION**

Endometrial hyperplastic processes take an important place among the gynecological diseases in women of various ages and are one of the most common reasons for admission at inpatient gynecology departments. The urgency of the pathology is due to the significant prevalence of endometrial hyperplastic processes, high incidence of malignancy, prolonged relapsing course, and decreased reproductive function, since these diseases are one of the most common causes of infertility in women of childbearing age. The statistics related to the incidence of endometrial hyperplastic processes in Ukraine is not available. An analysis of case histories and medical records showed that in 40% of cases, endometrial hyperplastic processes were asymptomatic. In 60% of cases, the clinical manifestations of endometrial hyperplastic processes were menstrual disorders, such as dysmenorrhea, oligomenorrhea, menorrhagia, and metrorrhagia. In 30% of cases, endometrial hyperplastic processes were recurrent. The most common concomitant pathologies of the pelvic organs were uterine leiomyoma and endometriosis; the most common concomitant extragenital diseases were hypertension and obesity. Our study and data analysis showed that there is an increasing trend in the incidence of endometrial hyperplastic processes in Sumy region in 2011–2020. The maximum incidence was in 2016. A correlation was found between hyperplasia incidence and age. Thus, the largest number of non-atypical and atypical endometrial hyperplasia cases was observed in women aged 45–55 years. The lowest number of non-atypical endometrial hyperplasia cases was registered in women aged 66+, while atypical hyperplasia cases – in women under 30 years of age. Glandular polyps of the endometrium were most often diagnosed at the age of 31–44; the lowest number of these was found in women over 66 years. Most glandular-fibrous endometrial polyps were observed in women aged 45–55 years, while women under 30 presented with the fewest cases. Fibrous endometrial polyps were most common in older age groups – 66+; the lowest number of such endometrial polyps was found in women under 30 years. We attributed the decreased incidence of endometrial hyperplastic processes in 2020 to the quarantine measures introduced, which, as a consequence, led to the decreased number of diagnosed cases, since they are often asymptomatic.

Keywords: endometrial hyperplasia, endometrial polyps, morbidity, classification, diagnostics, statistics.

Corresponding author: Nataliia L. Tsyndrenko, Department of Pathology, Sumy State University, Sumy, Ukraine
e-mail: nebesenko.n@ukr.net

Резюме

Наталія Л. Циндренко
ORCID: 0000-0001-6763-476X
Анатолій М. Романюк
ORCID: 0000-0003-2560-1382
Яна Р. Ніколаснко

*Кафедра патологічної анатомії,
Сумський державний університет,
м. Суми, Україна*

КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНА ТА ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ЕНДОМЕТРІЯ У СУМСЬКОМУ РЕГІОНІ

Гіперпластичні процеси ендометрія посідають вагомe місце серед гінекологічної захворюваності жінок різних вікових груп та є однією з найбільш частих причин госпіталізації до гінекологічного стаціонару. Актуальність патології зумовлена значним поширенням гіперпластичних процесів ендометрія, високою частотою малігнізації, тривалим рецидивуючим перебігом та зниженням репродуктивної функції, адже вони є однією з найчастіших причин непліддя у жінок репродуктивного віку. Статистичні дані щодо захворюваності на гіперпластичні процеси ендометрія в Україні відсутні. Виконаний аналіз історій хвороб та медичних карт показав, що у 40 % випадків гіперпластичні процеси ендометрія були безсимптомними. У 60% випадків клінічними проявами гіперпластичних процесів ендометрія були порушення менструального циклу у вигляді менорагії, метрорагії, дисменореї та олігоменореї. У 30 % випадків гіперпластичні процеси ендометрія були рецидивуючими. Найчастішою супутньою патологією зі сторони органів малого тазу були лейоміома матки та ендометріоз, а екстрагенітальною патологією – гіпертонічна хвороба та ожиріння. Виконане нами дослідження та аналіз даних показав, що на сьогодні спостерігається тенденція до зростання захворюваності на гіперпластичні процеси ендометрія у Сумському регіоні у період 2011–2020 років. Пік захворюваності припадав на 2016 рік. Відмічається певний взаємозв'язок частоти гіперплазій з віковими категоріями. Так, найбільша кількість неатипових та атипових гіперплазій ендометрія спостерігається у жінок віком 45–55 років. Найменша кількість неатипових гіперплазій ендометрія виявлена у жінок віком 66 і більше років, а атипових гіперплазій – у жінок віком до 30 років. Залозисті поліпи ендометрія найчастіше діагностуються у віці 31–44 роки; найменша ж кількість залозистих поліпів ендометрія виявлена у жінок після 66 років. Найбільша кількість залозисто-фіброзних поліпів ендометрія спостерігається у жінок віком 45–55 років, а найменша – у жінок до 30 років. Фіброзні поліпи ендометрія найчастіше зустрічаються у старших вікових групах – 66 і більше років; найменша кількість таких поліпів ендометрія виявлена у жінок до 30 років. Зменшення захворюваності на гіперпластичні процеси ендометрія у 2020 році нами пояснюється введеними карантинними заходами, і, як наслідок, зменшенням кількості діагностованих випадків гіперпластичних процесів ендометрія, адже останні часто перебігають безсимптомно.

Ключові слова: гіперплазія ендометрія, поліпи ендометрія, захворюваність, класифікація, діагностика, статистика.

Автор, відповідальний за листування: Наталія Л. Циндренко, Кафедра патологічної анатомії, Сумський державний університет, м. Суми, Україна
e-mail: nebesenko.n@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Tsyndrenko NL, Romaniuk AM, Nikolayenko YaR. Clinical, morphological, and epidemiological characteristics of endometrial hyperplastic processes in Sumy region. *EUMJ*. 2021;9(4):342-351

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):342-351](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):342-351)

Introduction/Вступ

Endometrial hyperplasia (EH) is a pathological condition characterized by hyperplastic changes in the glandular and stromal structures of the endometrium in the uterine cavity [1]. This is a histological diagnosis often made by morphologists and clinical gynecologists.

Clinicians and pathologists pay special attention to endometrial hyperplastic processes (EHP) due to the increasing incidence of this pathology (more than 200,000 new cases registered in developed countries per year) and the high risk of malignant transformation in untreated patients [2].

According to foreign authors, EHP developing in peri- and postmenopausal women leads to malignant transformation in 80% of cases. The frequency and timing of malignant transformation depend on the type of EHP [3]. Although there is no screening tool available for endometrial cancer, EHPs are recognized as prognostic markers for it, and thus, timely detection of EHP will help prevent the development of malignant processes [4]. Despite the high frequency of endometrial hyperplastic processes in the premenopausal period (up to 60–76%), there is an increasing trend of young women diagnosed with this disease. Due to anovulation secondary to chronic hyperestrogenemia, EHP became one of the causes of infertility in women of reproductive age [5]. The prevalence of endometrial polyps (EP) in women is about 7.8%. But in women over 30, it reaches 9.2%. In most cases, the polyps are benign. Estimation of endometrial cancer risks secondary to polyps varies depending on age groups and amounts to 1.1–4.9%. In older age groups, the risk of malignancy is higher [6]. The malignant potential of polyps is understudied [7].

There is no statistics available on the incidence of endometrial hyperplasia in Ukraine [8].

According to the International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (10th Revision, Australian Modification, 2017), EHPs include:

N84 Polyp of female genital tract

N84.0 Polyp of corpus uteri

N85 Other noninflammatory disorders of uterus, except cervix

N85.0 Endometrial glandular hyperplasia: cystic, glandular-cystic, polypoid

N85.1 Endometrial adenomatous hyperplasia

Hyperplasia of endometrium, atypical [9].

According to 2014 WHO classification, non-atypical hyperplasia and atypical hyperplasia are distinguished [10].

In 2000, a group of gynecologists suggested a classification of endometrial intraepithelial neoplasia (EIN) based on computerized morphometric analysis. Morphological D-score is calculated as stromal volume over total tissue volume. The total tissue volume includes the epithelium, stromal volume, and gland lumen. The endometrial tissue is considered benign if $D > 1$ and EIN if $D < 1$ [10].

The diagnostic criteria for EH are based on the assessment of the balance of glandular and stromal endometrial components, as well as the presence or otherwise of atypical epithelial cells. EHPs are characterized by endometrial glands proliferation, which leads to an increase in the gland to stroma ratio $> 50\%$, in contrast to normal proliferative endometrium (gland to stroma ratio $< 50\%$) [11].

Given the urgency of this problem, the goal of our study was to evaluate the prevalence of endometrial hyperplastic processes in Sumy region in 2011–2020 and to perform an analysis of the data.

Materials and methods

Data were collected and analyzed at MI of Sumy Regional Council "Sumy Regional Pathoanatomical Bureau" and at Department of Pathology of Medical Institute of Sumy State University in 2011–2020. The treated cases of endometrial hyperplastic process were analyzed using the data provided by Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Regional Council "Sumy Regional Clinical Oncological Dispensary", Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Municipal Council "Blessed Virgin Mary Clinical Maternity Hospital", and Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Regional Council "Regional Clinical Perinatal Center" in 2011–2020. Histological specimens were studied using morphological methods. Methods of statistical analysis were used to process the obtained results.

Results and discussion

An analysis of case histories and medical records showed that in 60% of cases, EHPs were accompanied by menstrual disorders, such as dysmenorrhea, oligomenorrhea, menorrhagia, and metrorrhagia. In 40% of cases, endometrial hyperplastic processes were asymptomatic. Analysis of histological material revealed that glandular hyperplasia of the endometrium is characterized by glands of various shapes and sizes (small to large and cystic). The latter were lined with high prismatic epithelial cells with multiple rows of nuclei and clearly defined apical sides of cells. The nuclei were oval and rich in chromatin. The cytoplasm was basophilic, usually with no secretion, although sometimes there was some

mucus in the lumen of the glands. Stromal cells were slightly enlarged and had acidophilic cytoplasm. In glandular and stromal cells, mitotic figures were often observed, which indicated active proliferation of glandular and stromal elements [12].

According to the results of the analysis, it was found that the largest number of EHP cases in Sumy region over the past 10 years was registered in 2016 (2020 cases of which 1679 EH cases (83.1%) and 341 EP cases (16.9%)), and the lowest number of EHP cases – in 2020 (1317 cases of which 899 EH cases (68.3%) and 418 EP cases (31.7%)) (Fig. 1). The latter might be due to the COVID-19 pandemic and related quarantine measures which led to a reduction in the number of diagnosed EHP cases.

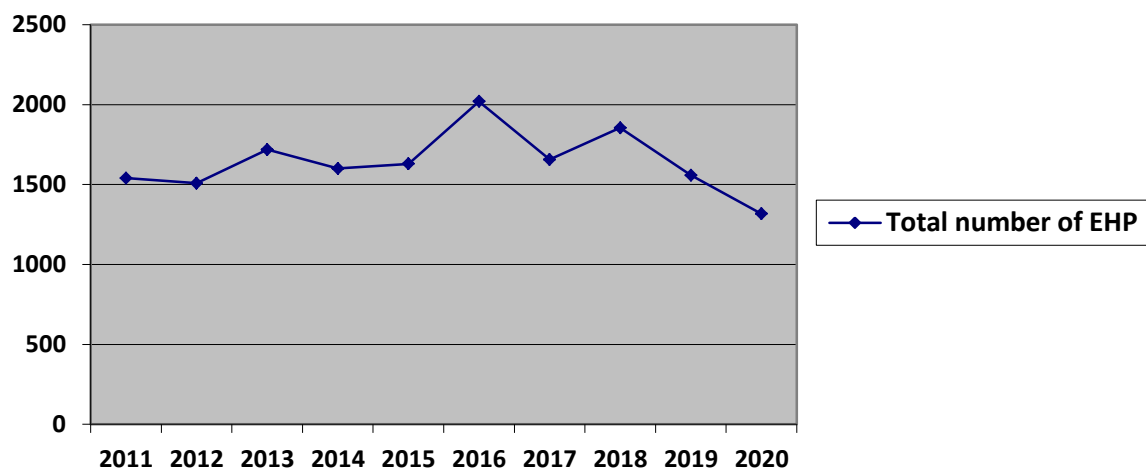


Figure 1 – Changes in the total number of EHP in Sumy region in 2011–2020

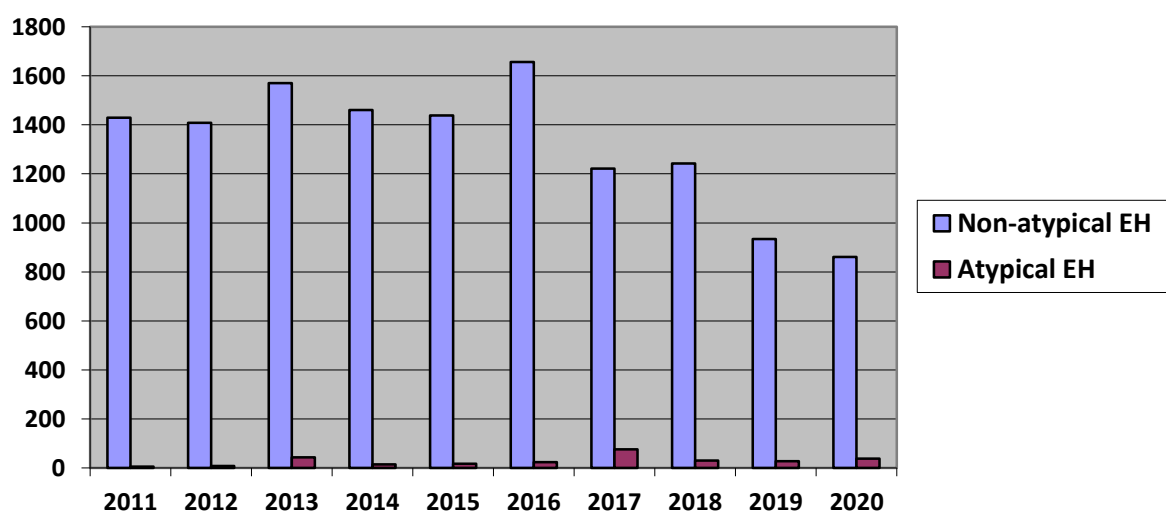


Figure 2 – Number of non-atypical EH and atypical EH cases in Sumy region in 2011–2020

According to the study results, the most of non-atypical EH cases were registered in 2016 (1656 cases – 98.6% of the total number of diagnosed EH cases in 2016), while the minimum number was reported in 2020 (861 cases – 95.8% of the total number of diagnosed EH in 2020). Atypical EH cases were most prevalent in 2017 (75 cases – 5.8% of the total diagnosed EH cases in 2017), while the fewest atypical EH cases were reported in 2011 (5 cases – 0.35% of the total diagnosed EH cases in 2011) (Fig. 2).

Analysis of the frequency of diagnosed EH during 2011–2020 showed an age-dependent correlation. Thus, the largest number of simple non-atypical EH was observed in women aged 45–55 years (a total of 6965 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 52.7% of the total diagnosed non-atypical EH cases in 2011–2020). The minimal number of simple non-atypical EH was registered in women aged 66+ (a total of 181 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 1.4% of the total diagnosed non-atypical EH cases in 2011–2020) (Fig. 3).

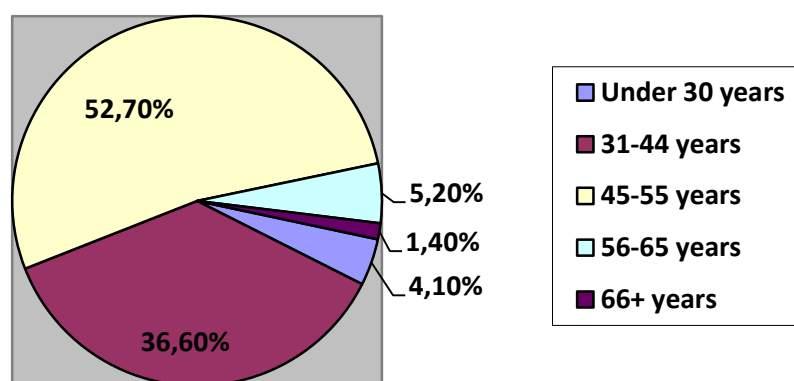


Figure 3 – Age structure of simple non-atypical EH in Sumy region in 2011–2020

The most of atypical EH cases were also observed in women aged 45–55 (a total of 132 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 47.1% of the total diagnosed atypical EH cases in 2011–2020). The minimal number of atypical EH

was reported in women under 30 (a total of only 7 atypical EH cases over 10 years in women of this age group, i.e. 2.5% of the total diagnosed atypical EH cases in 2011–2020) (Fig. 4).

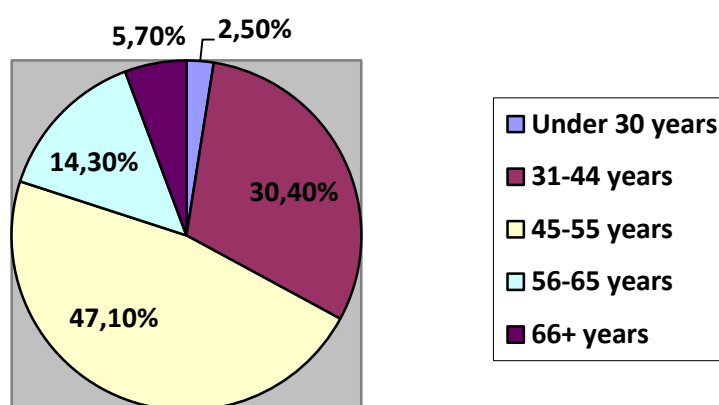


Figure 4 – Age structure of atypical EH in Sumy region in 2011–2020

Analysis of clinical data of the patients diagnosed with EHP showed that in 40% of women, EHPs manifested with menopause and metrorrhagia, in 15% – with oligomenorrhea, in 5%

of cases – with dysmenorrhea; 40% of EHPs were asymptomatic. In 30% of cases, endometrial hyperplastic processes were relapsing. Concomitant pathologies of female genital tract were: in 50% of

cases – uterine leiomyoma, in 40% of cases – endometriosis, in 25% of cases – cervical erosion, in 15% of cases – mastopathy; in 10% of cases – chronic adnexitis, in 5% of cases – ovarian cysts. 85% of women had pregnancies and deliveries. 15% of women had a history of infertility. Concomitant extragenital pathologies were: in 35% of cases – obesity and hypertension, in 20% of cases – gastrointestinal diseases, in 15% of cases – pathologies of the nervous system, in 10% of cases – diabetes mellitus, in 5% of cases – respiratory and urinary tract diseases.

A study of the histological material related to endometrial polyps showed that the polyps were localized elevations of endometrial glands and stroma protruding from the endometrium (focal endometrial hyperplasia) [13]. Most polyps were benign, although malignant transformation was observed in 0 to 13% of cases. We noted that polyp malignant potential was determined by the patient's age and menopausal status. These data were consistent with the literature data [14]. According to the histological structure, we distinguished glandular, glandular-fibrous, and fibrous polyps of the endometrium. Glandular polyps were usually formed from the basal layer and contained stroma and glands. Glandular-fibrous EP consisted of connective tissue stroma and a limited number of glands. Fibrous polyps derived from connective tissue and were often collagenized, with a few or no glands. We

noted that the hyperplasia of the endometrium and the surrounding stroma formed broad-based polypoid vegetations, which later developed a stalk. We found that EP could be single or multiple (in 26% of cases). We noted that with a long-term and favorable course, glandular polyps sometimes reversed by replacing glandular elements with fibrous tissue. According to some authors [15], this was usually accompanied by a decrease in the primary focus size.

According to the study results, the most EP cases were registered in 2019 (597 cases – 38.3% of the total number of diagnosed EP cases in 2019), while the minimum number of EP cases was reported in 2012 (92 cases – 6.5% of the total number of diagnosed EP in 2012). According to the analysis of EP histological structure, the most of glandular EP cases were registered in 2018 (475 cases – 81.2% of the total diagnosed EP cases in 2018), while the minimum number of glandular EP cases was reported in 2012 (73 cases – 79.3% of the total diagnosed EP cases in 2012). Glandular-fibrous EPs were most prevalent in 2019 (180 cases – 30.1% of the total diagnosed EP cases in 2019), while the fewest glandular-fibrous EP cases were reported in 2011 (4 cases – 3.8% of the total diagnosed EP cases in 2011). Fibrous EPs were most prevalent in 2019 (13 cases – 2.2% of the total diagnosed EP cases in 2019), while there were no fibrous EP cases diagnosed in 2011 and 2016 (Fig. 5).

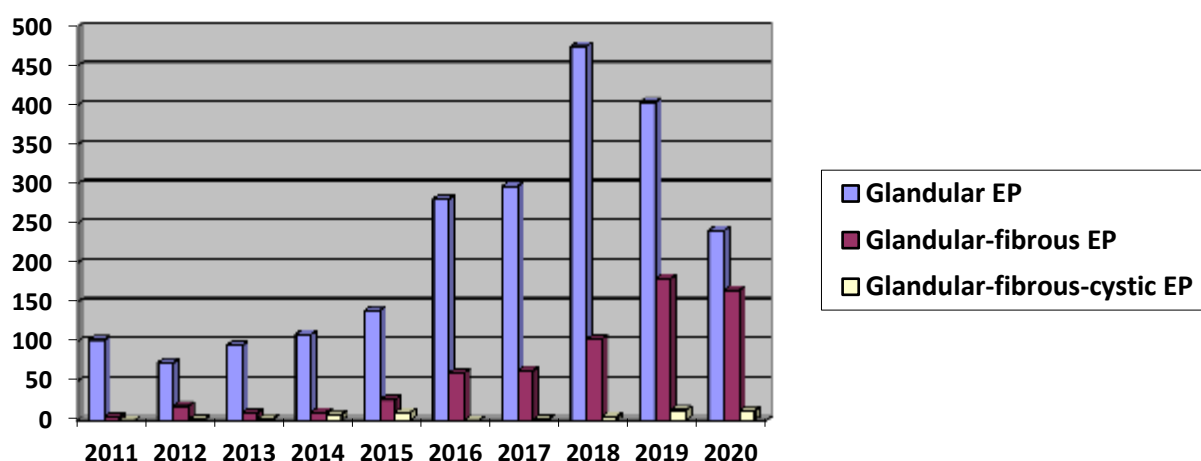


Figure 5 – Number of different histological EP types in Sumy region in 2011–2020

Analysis of EP-related age structure revealed a correlation with age. Thus, glandular polyps of the endometrium were most often diagnosed at the age of 31–44 (a total of 907 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 40.9% of the total diagnosed glandular EP cases in 2011–2020); the

lowest number of glandular EP cases was observed in women over 66 years (a total of 113 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 5.1% of the total diagnosed glandular EP cases in 2011–2020). Glandular-fibrous polyps of the endometrium were most often diagnosed at the age

of 45–55 (a total of 237 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 37.1% of the total diagnosed glandular-fibrous EP cases in 2011–2020); the lowest number of such EP cases was observed in women under 30 years (a total of 31 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 4.9% of the total diagnosed glandular-fibrous EP cases in 2011–2020). Fibrous polyps of the

endometrium were most often registered in older patients – 66+ years (a total of 23 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 45.1% of the total diagnosed fibrous EP cases in 2011–2020); the fewest fibrous EP cases were observed in women under 30 years (a total of only 2 cases over 10 years in women of this age group, i.e. 3.9% of the total diagnosed fibrous EP cases in 2011–2020).

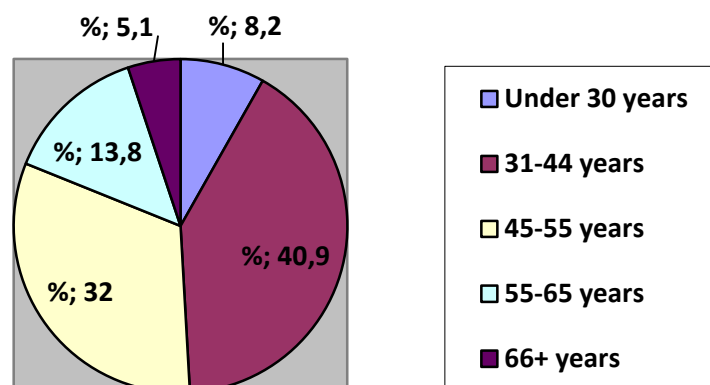


Figure 6 – Age structure of glandular EP in Sumy region in 2011–2020

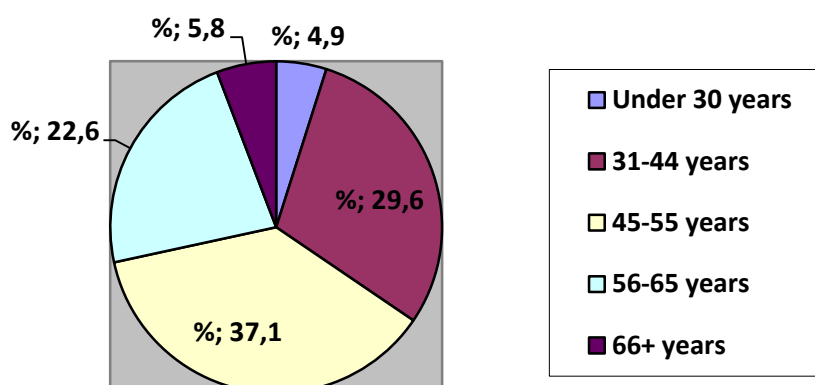


Figure 7 – Age structure of glandular-fibrous EP in Sumy region in 2011–2020

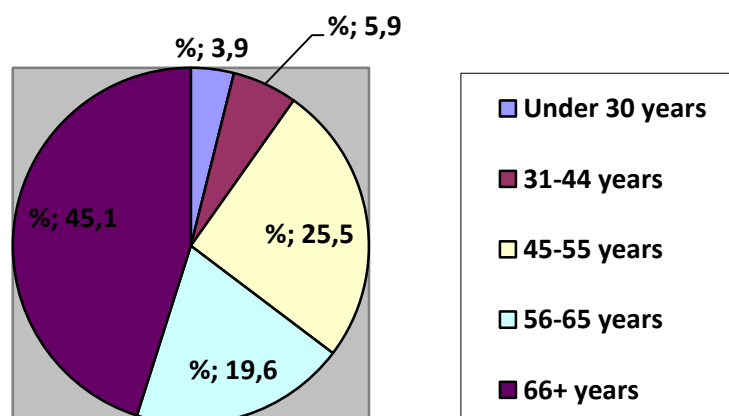


Figure 8 – Age structure of glandular-fibrous-cystic EP in Sumy region in 2011–2020

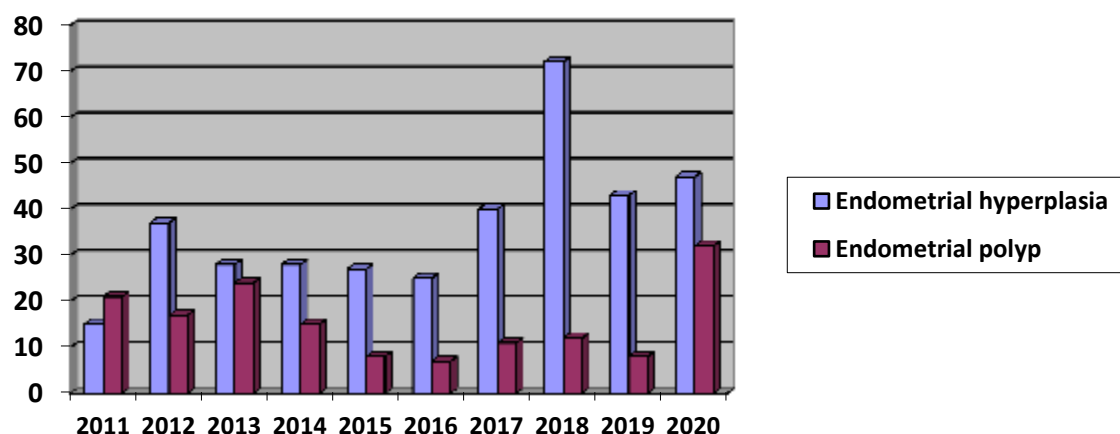


Figure 9 – EHP cases treated at Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Regional Council "Sumy Regional Clinical Oncological Dispensary" in 2011–2020

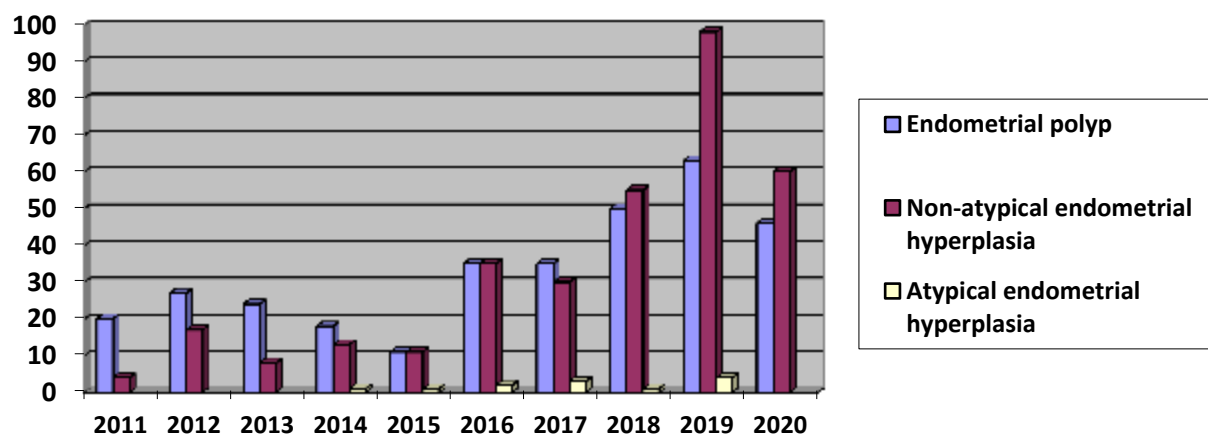


Figure 10 – EHP cases treated at Municipal Non-Profit Enterprise "Blessed Virgin Mary Clinical Maternity Hospital" in 2011–2020

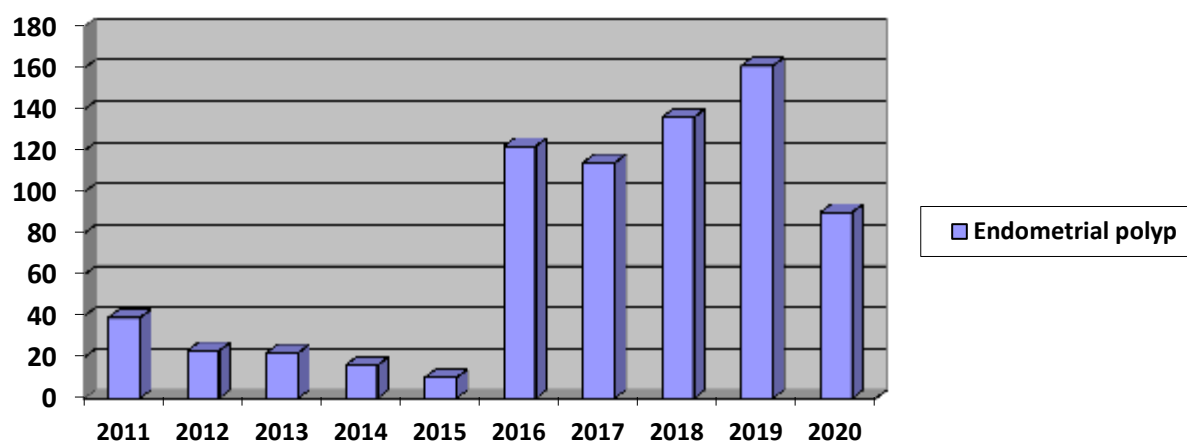


Figure 11 – EHP cases treated at Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Regional Council "Regional Clinical Perinatal Center" in 2011–2020

According to the results of the analysis, the largest number of EH cases treated at Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Regional Council was registered in 2018 (72 cases), and the largest number of endometrial polyps – in 2020 (32 cases). EH and EP cases treated at Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Municipal Council "Blessed Virgin Mary Clinical Maternity Hospital" were most prevalent in 2019 (98 and 63 cases, respectively). The most EP cases treated at Municipal Non-Profit Enterprise of Sumy Regional Council "Regional Clinical Perinatal Center" were reported in 2019 (161 cases).

Conclusions/Висновки

Statistical data analysis showed an increasing trend in the incidence of EHP in Sumy region in 2011–2020. We attributed the decreased incidence of EHP in 2020 to the quarantine measures, since EHP often has an asymptomatic course and patients do not seek medical attention. Therefore,

Data analysis showed that there was an increasing trend in the incidence of endometrial hyperplastic processes in Sumy. We attributed the decreased incidence of endometrial hyperplastic processes in 2020 to the quarantine measures introduced with relation to the COVID-19 pandemic, which, as a consequence, led to the decreased number of diagnosed cases, since they often have asymptomatic course. In older age groups, local EHP with a fibrous component predominated.

mandatory outpatient follow-up of such patients should be introduced. The maximum EHP incidence was observed in 2016. There is a correlation between EHP incidence and age, which requires appropriate attention from family physicians and gynecologists.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Study of the morphological and immunohistochemical features of different types of endometrial hyperplastic processes and investigation of the role of genetic polymorphisms in the development of endometrial hyperplastic processes.

References/Список літератури

1. Travaglino A, Raffone A, Saccone G, et al. Immunohistochemical predictive markers of response to conservative treatment of endometrial hyperplasia and early endometrial cancer: A systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(9):1086-1099. doi:10.1111/aogs.13587
2. Doherty MT, Sanni OB, Coleman HG, et al. Concurrent and future risk of endometrial cancer in women with endometrial hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2020;15(4). doi:10.1371/journal.pone.0232231
3. Giannella L, Cerami LB, Setti T, Bergamini E, Boselli F. Prediction of Endometrial Hyperplasia and Cancer among Premenopausal Women with Abnormal Uterine Bleeding. *Biomed Res Int.* 2019;2019. doi:10.1155/2019/8598152
4. Hutt S, Tailor A, Ellis P, Michael A, Butler-Manuel S, Chatterjee J. The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: a literature review. *Acta Oncol.* 2019;58(3):342-352. doi:10.1080/0284186X.2018.1540886
5. Giannella L, Carpini GD, Sopracordevole F, et al. Atypical endometrial hyperplasia and unexpected cancers at final histology: A study on endometrial sampling methods and risk factors. *Diagnostics.* 2020;10(7). doi:10.3390/diagnostics10070474
6. Yuksel S, Tuna G, Celik HG, Salman S. Endometrial polyps: Is the prediction of spontaneous regression possible? *Obstet Gynecol Sci.* 2021;64(1):114-121. doi:10.5468/OGS.20242
7. Adomaitienė L, Nadišauskienė R, Nickkho-Amiry M, et al. Proliferation in postmenopausal endometrial polyps—A potential for malignant transformation. *Med.* 2019;55(9). doi:10.3390/medicina55090543
8. Nakaz MOZ Ukrainy vid 05.05.2021 № 869 "Pro zatverdzhennia Unifikovanoho klinichnogo protokolu pervynnoi, vtoryynnoi (spetsializovanoi), tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy «Hiperplaziia endometriia»



9. Sobczuk K, Sobczuk A. New classification system of endometrial hyperplasia WHO 2014 and its clinical implications. *Prz Menopauzalny*. 2017;16(3):107-111. doi:10.5114/pm.2017.70589
 10. Sanderson PA, Critchley HOD, Williams ARW, Arends MJ, Saunders PTK. New concepts for an old problem: The diagnosis of endometrial hyperplasia. *Hum Reprod Update*. 2017;23(2):232-254. doi:10.1093/humup/dmw042
 11. Williams K, Ko E. Endometrial hyperplasia. In: *Handbook of Gynecology*. Vol 2. Springer International Publishing; 2017:877-891. doi:10.1007/978-3-319-17798-4_3
 12. Auclair MH, Yong PJ, Salvador S, Thurston J, Colgan T (Terry) J, Sebastianelli A. Guideline No. 390-Classification and Management of Endometrial Hyperplasia. *J Obstet Gynaecol Canada*. 2019;41(12):1789-1800. doi:10.1016/j.jogc.2019.03.025
 13. Bocca SM. Endometrial polyps. In: *Ultrasound Imaging in Reproductive Medicine: Advances in Infertility Work-Up, Treatment, and Art*. Springer New York; 2014:133-149. doi:10.1007/978-1-4614-9182-8_11
 14. Nijkang NP, Anderson L, Markham R, Manconi F. Endometrial polyps: Pathogenesis, sequelae and treatment. *SAGE Open Med*. 2019;7:205031211984824. doi:10.1177/2050312119848247
 15. Tanos V, Berry KE, Seikkula J, et al. The management of polyps in female reproductive organs. *Int J Surg*. 2017;43:7-16. doi:10.1016/j.ijsu.2017.05.012
- (received 22.09.2021, published online 29.12.2021)
(одержано 22.09.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Nataliia Leonidivna Tsyndrenko, postgraduate student, Department of Pathology, Sumy State University, Sumy, Ukraine.

E-mail: nebesenko.n@ukr.net

ORCID: 0000-0001-6763-476X

Anatolii Mykolaiovych Romaniuk, DMedSc, Prof., Head of the Department of Pathology, Sumy State University, Sumy, Ukraine.

E-mail: pathomorph@gmail.com

ORCID: 0000-0003-2560-1382

Yana Romanivna Nikolayenko, 4th year student of the Medical Institute, Sumy State University, Sumy, Ukraine.

E-mail: nijana001@gmail.com

Abstract

Oksana M. Herasymova
[ORCID:0000-0002-7516-7425](https://orcid.org/0000-0002-7516-7425)

Volodymyr M. Savvo,
*Department of Pediatrics, Kharkiv
Medical Academy of Postgraduate
Education, Kharkiv, Ukraine*

**PERINATAL AND HEREDITARY RISK FACTORS OF HEART
RATE AND CONDUCTION DISORDERS IN CHILDREN WITH
GASTROESOPHAGEAL REFLUX**

Objective: to improve the early diagnosis of cardiac arrhythmias and conduction disorders in children with gastroesophageal reflux by evaluating hereditary and perinatal risk factors for this pathology.

Materials and Methods. The study involved 56 children aged 8 to 18 years, with an average age of 13.67 ± 2.67 years; 28 children with gastroesophageal reflux in combination with arrhythmias and cardiac conduction disorder comprised Group I (the main group), and 28 children with only gastroesophageal reflux without disorders of heart rhythm and conduction comprised Group II (the control group). Patients underwent clinical, anamnestic (with special attention paid to hereditary and perinatal history) and instrumental studies (electrocardiography, 24-hour Holter ECG monitoring, esophagogastroduodenoscopy).

Results. Genetic burden of cardiovascular disease was found in 57.1% of mothers and 42.9% of fathers of patients in the main group, which was significantly higher than that in the control group: by 3.2 times (17.9%; $p \leq 0.001$) and 2 times (in 21.4%; $p \leq 0.05$), respectively.

Apart from that, stratification of the parameter by the number of chronic diseases, namely ≤ 1 and ≥ 2 , in both parents, showed that fewer (≤ 1) chronic diseases were characteristic of mothers and fathers of the control group children and were registered in 53.5% and 58.9% of them, respectively, while in the main group, the proportion of such parents was lower: by 5 times (10.7%; $p \leq 0.001$) and 1.8 times (32.1%; $p \leq 0.05$), respectively.

It was found that gravida 1 para 1 and gravida 2 para 2 mothers were significantly more common among those of patients in the control group (85.8% and 62.5%, respectively; $p \leq 0.05$), while gravida 3 para 3 and more was typical for mothers of patients in the main group and were observed in 37.5% of them, while in the control group, this value was 2.6 times lower (14.2%; $p \leq 0.05$).

As for the parity, the first childbirth was reported in 64.3% of mothers in the main group and in 28.6% of mothers (2.2 times less often) in the control group ($p \leq 0.05$); while multipara mothers were characteristic of the control group children (71.4%), which was 2 times more often than in the main group (35.7%; $p \leq 0.05$).

The risk factors of arrhythmias and cardiac conduction disorder were threatened miscarriage and toxemia in the first half of pregnancy. Thus, threatened miscarriage was reported in 46.4% of mothers of the main

group children and was observed 2.2 times less often (21.4%; $p \leq 0.05$) in the control group; toxemia in the first half of pregnancy was diagnosed in 50% of mothers of children in the main group and 2 times less often (in 25%; $p \leq 0.05$) – in the control group.

Another predictor of the studied pathology was the physiological course of childbirth. Complicated childbirth was observed in 60.7% of mothers in the main group and 1.9 times less often (32.9%; $p \leq 0.05$) – in the control group.

Relatively low (up to 3000 g) birthweight and fetal macrosomia (≥ 4000 g) also acted as risk factors. The proportion of patients with a bodyweight of up to 3000 g was 32.1% in the main group, and 3 times less (10.7%; $p \leq 0.05$) – in the control group. The bodyweight of ≥ 4000 g (large fetus) was a specific feature of patients in the main group, as it was reported exclusively among them (17.9%) and was not observed in the control group (0%, $p \leq 0.001$).

Conclusions. It was revealed that the maternal and paternal genetic burden of cardiovascular diseases and the number of chronic diseases in parents were statistically significant hereditary risk factors for the development of arrhythmias and conduction disorders in children.

It was found that statistically significant perinatal predictors of arrhythmias and conduction disorders in children with GER included threatened miscarriage; toxemia; multigravida and multipara status; complicated delivery; relatively low (up to 3000 g) birthweight and fetal macrosomia (≥ 4000 g).

Keywords: perinatal and hereditary risk factors, gastroesophageal reflux, arrhythmias, children.

Corresponding author: Oksana M. Herasymova, Department of Pediatrics, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine
e-mail: oleksiisenik@ukr.net

Резюме

**Оксана М. Герасимова,
Володимир М. Савво,
Кафедра педіатрії, Харківська
медична академія післядипломної
освіти, м. Харків, Україна**

ПЕРИНАТАЛЬНІ І СПАДКОВІ ФАКТОРИ РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ПОРУШЕНЬ СЕРЦЕВОГО РИТМУ ТА ПРОВІДНОСТІ У ДІТЕЙ З ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНИМ РЕФЛЮКСОМ

Мета: удосконалити ранню діагностику порушень серцевого ритму та провідності у дітей з ГЕР, шляхом вивчення спадкових і перинатальних факторів ризику виникнення даної патології.

Матеріали та методи. В дослідженні приймали участь 56 дітей віком від 8 до 18 років, середнім віком $13,67 \pm 2,67$ років, з них 28 дітей з наявністю ГЕР в комбінації з порушеннями серцевого ритму та провідності представляли собою I групу (основну), а 28 дітей з наявністю лише ГЕР без порушень серцевого ритму та провідності – II групу (контрольну). Пацієнтам були проведені клінічні, анамnestичні (особливу увагу приділено спадковому і перинатальному анамнезу) й інструментальні дослідження (електрокардіографія, холтеровське добове моніторування ЕКГ, езофагогастроудоденоскопія).

Результати. Генетичне обтяження з боку серцево-судинних захворювань виявлялось у 57,1 % матерів і у 42,9 % татусів хворих основної групи, що достовірно вище групи контролю (відповідно в 3,2 рази (у 17,9 %; $p \leq 0,001$) і в 2 рази (у 21,4 %; $p \leq 0,05$).

Крім того, у обох батьків, при укрупненні градації показника кі-

лькості хронічних захворювань до ≤ 1 і ≥ 2 було визначено, що маленька кількість (≤ 1) хронічних захворювань була характерна для матерів і татусів дітей контрольної групи і зареєстрована відповідно у 53,5 % і 58,9 % з них, а в основній групі частка таких матерів і татусів була нижче відповідно в 5 разів (10,7 %; $p \leq 0,001$) і в 1,8 разів (у 32,1 %; $p \leq 0,05$).

Визначено, що перша або друга черговість вагітності, від котрої народилась дитина, достовірно частіше виявлялися серед матерів у хворих групи контролю (відповідно у 85,8 % та 62,5 %; $p \leq 0,05$), а третя та більше вагітності були характерні для матерів хворих основної групи і відмічалися у 37,5 % з них та в 2,6 разів рідше (у 14,2 %; $p \leq 0,05$) – в групі контролю.

Що стосується черговості пологів, то перші пологи виявлені у 64,3 % матерів дітей основної групи та у 2,2 разів рідше (у 28,6%; $p \leq 0,05$), в групі контролю, а повторнородящі були характерні для групи контролю та виявлялись у 71,4 % з них і у 2 рази рідше (у 35,7 %; $p \leq 0,05$) – в основній групі.

Факторами ризику розвитку порушень серцевого ритму та провідності також є загроза переривання вагітності та явища гестозу першої половини вагітності. Так, загроза переривання вагітності діагностована у 46,4 % матерів пацієнтів основної групи та у 2,2 рази рідше (у 21,4 %; $p \leq 0,05$) – в групі контролю, а гестоз першої половини вагітності відмічався у половини (50 %) матерів хворих основної групи та в 2 рази рідше (у 25 %; $p \leq 0,05$) – серед матерів дітей групи контролю.

Ще одним предиктором досліджуваної патології є фізіологічність пологів. При цьому ускладнені пологи були характерні для хворих основної групи, так як виявлялись у 60,7 % з них, і в 1,9 рази рідше (у 32,9; $p \leq 0,05$) – в групі контролю.

Відносно низька (до 3000 г) вага тіла і великий плід (≥ 4000 г) також є факторами ризику. Доля хворих основної групи з вагою тіла до 3000 г склала 32,1%, а групи контролю – в 3 рази менше (10,7 %; $p \leq 0,05$). Значення ваги тіла ≥ 4000 г (великий плід) виявилось специфічною ознакою для пацієнтів основної групи, так як визначалось лише серед них (у 17,9 %) та не відмічалось в групі контролю (0 %, $p \leq 0,001$).

Висновки. Виявлено, що достовірними спадковими факторами ризику виникнення досліджуваної патології по лінії обох батьків є генетичне обтяження з боку серцево-судинних захворювань і кількість хронічних захворювань.

Визначено, що достовірними перинатальними предикторами порушень серцевого ритму та провідності в комбінації з ГЕР є черговість вагітності і пологів, від якої народилась дитина; фізіологічність останніх; загроза переривання вагітності; явища гестозу першої половини вагітності; відносно низька (до 3000 г) вага тіла новонародженої дитини і великий плід (≥ 4000 г).

Ключові слова: спадкові і перинатальні фактори ризику, гастроезофагеальний рефлюкс, аритмії, діти.

Автор, відповідальний за листування: Оксана М. Герасимова, кафедра педіатрії, Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна
e-mail: oleksiisenik@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Herasymova OM, Savvo VM. Perinatal and hereditary risk factors of heart rate and conduction disorders in children with gastroesophageal reflux. *EUMJ*. 2021;9(4):352-361

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):352-361](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):352-361)

Introduction/Вступ

In recent decades, the proportion of arrhythmias and cardiac conduction disorders has increased significantly in the structure of cardiovascular diseases in children around the world. Various scientists reported that it accounted for up to 30% of all cardiovascular diseases [1, 2].

In childhood, the diagnosis of arrhythmias and conduction disorders is often complicated by asymptomatic course, which is a serious problem because late diagnosis leads to more severe complications and worse pathological process with frequent chronicity and increased risk of sudden death [3, 4].

Differential diagnosis of arrhythmias and conduction disorders in combination with gastroesophageal reflux in children is even more challenging, because some pathologies (e.g. chronic gastroduodenitis) accompanied by GER often have asymptomatic course as well, while clinical atypical cardiac manifestations of other diseases (e.g. gastroesophageal reflux disease) are often similar to clinical manifestations of arrhythmias and conduction disorders. It is also difficult to differentiate between the isolated course of arrhythmias and heart disorders in children in combination with gastroesophageal reflux [5, 6].

An analysis of the scientific data revealed that regardless of the course of pregnancy, the risk of arrhythmias and conduction disorders in children was closely related to their hereditary and perinatal history [7, 8].

However, the role of hereditary and perinatal factors in the development of arrhythmia and conduction disorder combination in children with concomitant gastroesophageal reflux has been insufficiently studied. Therefore, determination of the risk of this pathology in children depending on genetic burden will contribute to early diagnosis and differential diagnosis with isolated variants of arrhythmias and cardiac conduction disorders and digestive diseases accompanied by GER (i.e. gastroesophageal reflux disease and chronic gastroduodenitis). This paper is focused on these issues.

The objective of the paper is to improve the early diagnosis of cardiac arrhythmias and conduction disorders in children with gastroesophageal reflux by

evaluating hereditary and perinatal risk factors for this pathology.

Materials and Methods

The study involved 56 children aged 8 to 18 years, with an average age of 13.67 ± 2.67 years, who were inpatients at the City Cardiorheumatology Department of Municipal Non-Profit Enterprise "Children's Clinical Hospital No. 24" of Kharkiv City Council and outpatients at Municipal Non-Profit Enterprise "City Children's Polyclinic No. 23" of Kharkiv City Council in the period from September 2018 to July 2021. Of these, 28 children with gastroesophageal reflux in combination with cardiac arrhythmias and conduction disorder comprised Group I (the main group), and 28 children with only gastroesophageal reflux without disorders of heart rhythm and conduction comprised Group II (the control group).

The patients in the groups were matched by sex: Group I involved (64.3 ± 9.1)% of boys, and (35.7 ± 9.1)% of girls ($\chi^2 = 0.571$; $p = 0.4497 > 0.05$); Group II included (42.9 ± 9.4)% of boys and (57.1 ± 9.4)% of girls ($\chi^2 = 2.286$; $p = 0.1306 > 0.05$).

During the study, we adhered to the principles of the Declaration of Helsinki of the General Assembly of the World Medical Association (1964–2000) and the protocol of the Bioethics Commission of the Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education No. 2 dated 14 Sep 2021. Informed consent was obtained from all parents or guardians of children who participated in the study.

The inclusion criteria were: 1) gastroesophageal reflux in combination with or without cardiac arrhythmias and conduction disorders, 2) 8 to 18 years of age, 3) signed parent/guardian informed consent form.

Clinical trials were a survey of patients for the presence or absence of relevant complaints that were characteristic of the studied pathology and their further detail: nature, frequency, severity, duration, and the number of identified complaints.

Anamnestic studies included a thorough study of perinatal, hereditary, and life history. Gastroesophageal reflux was confirmed using esophagogastroduodenoscopy. Verification of arrhythmias in children was performed on the basis of electrocardiographic data and 24-hour Holter ECG monitoring with "Poli-Spectr + DM" device.

Exclusion criteria were: congenital heart diseases; acute inflammatory processes during the study; condition after correction of congenital heart disease or radiofrequency catheter ablation; decompensation stage of severe somatic pathology; the refusal of parents or guardians for the children to participate in the study.

Statistical processing of the results was performed using MS Office Excel software (Microsoft Corporation, USA) and Epitools online statistical calculator (epitools.ausvet.com.au, Austria). The age of patients was estimated by determining the sample mean value and the standard error. The frequency of occurrence of the trait (p) was used to describe qualitative variables. Differences in the compared groups were determined using the angular Fisher ϕ -transformation.

Table 1 – Maternally inherited genetic burden

Parameter	Parameter option	Group I		Group II		P
		n	%	n	%	
Cardiovascular diseases	present	16	57.1	5	17.9	≤ 0.001
	absent	12	42.9	23	82.0	≤ 0.001
Gastrointestinal diseases	present	9	32.1	10	35.7	≥ 0.05
	absent	19	67.9	18	64.3	≥ 0.05
Endocrine diseases	present	5	17.9	4	14.3	≥ 0.05
	absent	23	82.1	24	85.7	≥ 0.05
Allergic manifestations	present	7	25.0	3	10.7	≥ 0.05
	absent	21	75.0	25	89.3	≥ 0.05
Vegetovascular disorder	present	5	17.9	3	10.7	≥ 0.05
	absent	23	82.1	25	89.3	≥ 0.05
Obesity	present	11	39.3	8	27.1	≥ 0.05
	absent	17	60.7	20	72.9	≥ 0.05
Urinary system diseases	present	7	25	3	10.7	≥ 0.05
	absent	22	78.6	23	82.1	≥ 0.05
Number of chronic diseases	0	0	0	2	7.1	≥ 0.05
	1	3	10.7	13	46.4	≤ 0.001
	2	13	46.4	7	25.0	≥ 0.05
	≥ 3	12	47.8	6	21.4	≥ 0.05

In addition, a significant difference was found between the groups in relation to the number of mother's chronic diseases. Although, no significant differences seemed to be found between the groups ($p \geq 0.05$), however, stratification of the parameter by the number of chronic diseases, namely ≤ 1 and ≥ 2 (Figure 1), showed a significant correlation between this value and the risk of cardiac arrhythmias and conduction disorders. It was as follows: fewer (0–1; ≤ 1) chronic diseases were

Homogeneity of gender distribution in groups was tested by means of Pearson's chi-squared test for one-way frequency tables. All calculations were performed with a 95% confidence interval.

Results

The study of the influence of hereditary factors on this pathology showed a significant difference for several maternally inherited parameters (Table 1). Such parameters, first of all, included the genetic burden for cardiovascular diseases. This burden was found in 57.1% of mothers in the main group and in 17.9% of mothers (2.3 times less often) in the control group ($p \leq 0.001$); while no such burden, on the contrary, was characteristic of the mothers of the control group children (87.1%), which was 1.9 times more often than in the main group (42.9%; $p \leq 0.001$).

characteristic of mothers of the control group children and were registered in 53.5% of them, while in the main group, the proportion of such mothers was 5 times less (10.7%; $p \leq 0.001$). Significant (≥ 2) mother's morbidity was a risk factor for the studied pathology, as the proportion of mothers with ≥ 2 diseases equaled 89.3% in the main group, while in the control group, this parameter was reported 1.9 times less often (46.5%; $p \leq 0.001$).

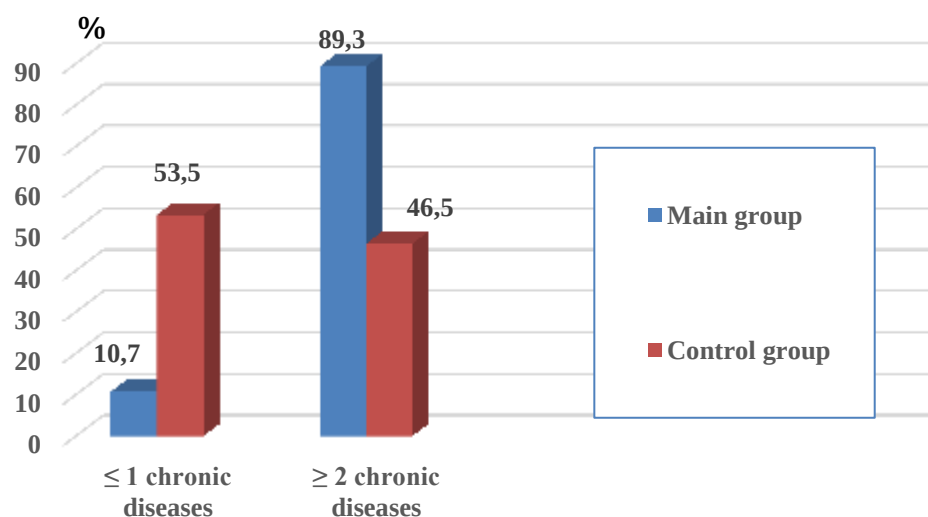


Figure 1 – Distribution of the patients in groups according to the number of mother's chronic diseases

Regarding other parameters of genetic burden, no significant difference was found between the groups ($p \geq 0.05$). At the same time, for most parameters (except for gastrointestinal diseases), a trend was observed indicating a greater genetic burden in the main group children.

With regard to paternal inheritance, a significant difference was observed between the groups (Table 2) regarding the specific genetic burden, i.e. cardiovascular diseases. They were observed in 42.9% of fathers in the main group and 2 times less often (21.4%; $p \leq 0.05$) in the control group. No other significant differences were found ($p \geq 0.05$).

Table 2 – Paternally inherited genetic burden

Parameter	Parameter option	Group I		Group II		p
		n	%	n	%	
Cardiovascular diseases	present	12	42.9	6	21.4	≤ 0.05
	absent	16	57	22	78.6	≤ 0.05
Gastrointestinal diseases	present	10	35.7	9	32.1	≥ 0.05
	absent	18	64.3	19	67.9	≥ 0.05
Endocrine diseases	present	5	17.9	3	10.7	≥ 0.05
	absent	23	82.1	25	89.3	≥ 0.05
Allergic manifestations	present	3	10.7	5	17.9	≥ 0.05
	absent	25	89.3	23	82.1	≥ 0.05
Respiratory diseases	present	3	10.7	4	14.3	≥ 0.05
	absent	25	89.3	24	85.7	≥ 0.05
Obesity	present	8	28.6	9	32.1	≥ 0.05
	absent	20	71.4	19	67.9	≥ 0.05
Urinary system diseases	present	4	14.3	3	10.7	≥ 0.05
	absent	24	85.7	25	89.3	≥ 0.05
Number of chronic diseases	0	2	7.1	4	14.3	≥ 0.05
	1	7	25	13	44.6	≥ 0.05
	2	14	50	10	35.7	≥ 0.05
	≥ 3	5	7.9	1	3.4	≥ 0.05

However, stratification of the parameter by the number of chronic diseases also revealed a statistically significant correlation between this factor and investigated pathology (Figure 2), i.e. fewer (0–1; ≤ 1) chronic diseases were 1.8 times more common in the control group vs. the main

group (58.9% and 32.1%, respectively; $p \leq 0.05$), and a higher incidence (≥ 2) was characteristic of fathers of the main group patients (67.9%), while it was significantly lower (41.1%; $p \leq 0.05$) in the control group.

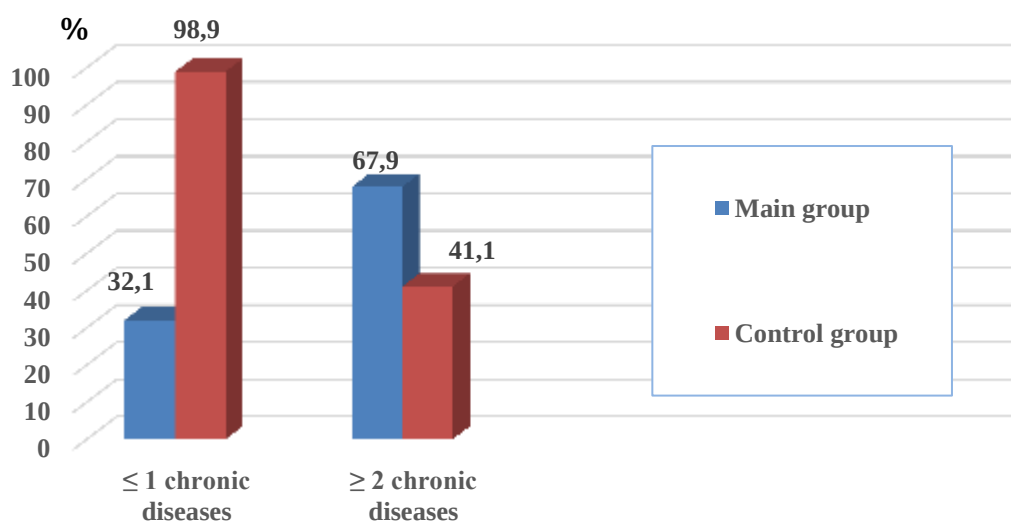


Figure 2 – Distribution of the patients in groups according to the number of father's chronic diseases

Analysis of perinatal history data in the groups revealed a significant difference for some parameters (Table 3). Thus, gravida 1 para 1 and gravida 2 para 2 mothers were significantly more common among those of patients in the control group (85.8% and 62.5%, respectively; $p \leq 0.05$), while gravida 3 para 3 and more was typical for mothers of patients in the main group and were observed in 37.5% of them, while in the control group, this value was 2.6 times lower (14.2%; $p \leq 0.05$).

As for the parity, the first childbirth was reported in 64.3% of mothers in the main group and in 28.6% of mothers (2.2 times less often) in the control group ($p \leq 0.05$); while multipara mothers were characteristic of the control group children (71.4%), which was 2 times more often than in the main group (35.7%; $p \leq 0.05$).

The risk of arrhythmia and conduction disorders also depends on the course of pregnancy. The risk factors are threatened miscarriage and toxemia in the first half of pregnancy. Thus, threatened miscarriage was reported in 46.4% of mothers of the main group children and was observed 2.2 times less often (21.4%; $p \leq 0.05$) in the control group. Toxemia in the first half of pregnancy was diagnosed in 50% of

mothers of children in the main group and 2 times less often (in 25%; $p \leq 0.05$) – in the control group.

Regarding toxemia in the second half of pregnancy, it was more frequent among mothers of the main group children (50% and 25%, respectively). However, for this parameter, the difference was of no statistical significance ($p \geq 0.05$).

A similar situation was observed for preeclampsia, which was reported in 28.6% of mothers of the main group patients and 2 times less often (14.3%) – in the control group. However, these differences were only regarded as trends, since they did not have statistical significance ($p \geq 0.05$).

A physiological course of childbirth played an important role in risk determination for arrhythmia and conduction disorders. Complicated childbirth was observed in 60.7% of mothers in the main group and 1.9 times less often (32.9%; $p \leq 0.05$) – in the control group.

The proportion of children with central nervous system (CNS) damage in the studied groups did not differ significantly ($p \geq 0.05$).

Such parameter as birthweight revealed a controversial influence on the development of this pathology. At the same time, relatively low (up to

Table 3 – Distribution of patients in groups according to perinatal history

Parameter	Parameter option	Group I		Group II		p
		n	%	n	%	
Gravidity	1–2	16	62.5	24	85.8	≤ 0.05
	≥ 3	12	37.5	4	14.2	≤ 0.05
Pregnancy course	complicated	16	62.5	24	85.8	≤ 0.05
	uncomplicated	12	37.5	4	14.2	≤ 0.05
Parity	1	18	64.3	8	28.6	≤ 0.05
	≥ 2	10	35.7	20	71.4	≤ 0.05
Threatened miscarriage	present	13	46.4	6	21.4	≤ 0.05
	absent	15	53.6	22	78.6	≤ 0.05
Toxemia in the 1 st half of pregnancy	present	14	50.0	7	25.0	≤ 0.05
	absent	14	50.0	21	75.0	≤ 0.05
Toxemia in the 2 nd half of pregnancy	present	15	53.6	9	32.1	≥ 0.05
	absent	13	46.4	19	67.9	≥ 0.05
Preeclampsia	present	8	28.6	4	14.3	≥ 0.05
	absent	20	71.4	24	85.7	≥ 0.05
Birth asphyxia	present	14	50.0	8	28.6	≥ 0.05
	absent	14	50.0	20	71.4	≥ 0.05
Newborn brain damage	present	7	25.0	8	28.6	≥ 0.05
	absent	21	75.0	20	71.4	≥ 0.05
Labor complications	present	17	60.7	9	32.1	≤ 0.05
	absent	11	39.3	19	67.9	≤ 0.05
Bodyweight at birth, grams	≤ 3000	9	32.1	3	10.7	≤ 0.05
	3001–3999	14	50.0	25	89.3	≤ 0.001
	≥ 4000	5	17.9	0	0	≤ 0.001

3000 g) birthweight and fetal macrosomia (≥ 4000) acted as risk factors. Thus, the proportion of patients with a bodyweight of up to 3000 g was 32.1% in the main group, and 3 times less (10.7%; $p \leq 0.05$) – in the control group. The bodyweight of ≥ 4000 g (large fetus) was a specific feature of patients in the main group, as it was reported exclusively among them (17.9%) and was not observed in the control group (0%, $p \leq 0.001$).

As for the reference values of bodyweight (3001–3999 g), they were found in the majority (89.8%) of patients in the control group, and were significantly less common (in 50.0%; $p \leq 0.001$) in the main group.

Discussion

Analysis of the scientific literature showed that the genetic burden of cardiovascular diseases and the number of chronic diseases, both maternal and paternal, played an important role in the development of arrhythmias and conduction disorders in children. The most common perinatal risk factors for this pathology

included threatened miscarriage; toxemia; multigravida and multipara status; complicated delivery; relatively low (up to 3000 g) birthweight and fetal macrosomia (≥ 4000 g). According to scientific data, in contrast to the results of our study, children born to primigravida women were significantly more likely to develop arrhythmias; however, these data made no reckoning of whether it was an isolated arrhythmia or arrhythmia in combination with GER [9, 10, 11, 12, 13].

No data have been found on the influence of hereditary and perinatal factors on the occurrence of arrhythmias and cardiac conduction disorders in combination with concomitant gastroesophageal reflux in children.

The practical significance of this study is to develop criteria for early diagnosis and differential diagnosis of arrhythmias and cardiac conduction disorders in combination with concomitant gastroesophageal reflux vs. isolated variants of this pathology and digestive diseases accompanied by GER. These criteria will reduce

the prevalence of these pathologies; severity of complications; course severity and chronicity

Conclusions/Висновки

It was revealed that the maternal and paternal genetic burden of cardiovascular diseases and the number of chronic diseases in parents were statistically significant hereditary risk factors for the development of arrhythmias and conduction disorders in children.

frequency; risk of sudden death characteristic of arrhythmias.

It was found that statistically significant perinatal predictors of arrhythmias and conduction disorders in children with GER included threatened miscarriage; toxemia; multigravida and multipara status; complicated delivery; relatively low (up to 3000 g) birthweight and fetal macrosomia (≥ 4000 g).

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Study limitations: a small sample of patients participating in the study.
A study involving a large sample of patients should be considered.

References/Список літератури

1. Blafox AD. *Irregular heart rhythm (arrhythmias) in children*. Waltham: MA, 2018. pp.1-150.
2. Senatorova GS, Gonchar MO, Strashok OI, Hain MA, Strelkova MI. *Tahiaritmiï u ditej* [Tachyarrhythmias in children]. Harkiv: Novoe slovo Publ., 2018. 84 p.
3. Osteraas N. Neurologic complications of brady-arrhythmias. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier. 2021;177:163-174. doi: 10.1016/B978-0-12-819814-8.00006-8
4. Rohit M, Kasinadhuni G. Management of Arrhythmias in Pediatric Emergency. *Indian J Pediatr*. 2020;87:295–304. doi: 10.1007/s12098-020-03267-2
5. Lakshmanadoss U. *Differential Diagnosis of Chest Pain*. BoD–Books on Demand, 2020. 86 p. doi: 10.5772/intechopen.7887
6. Rees CJ, Cantor RM, Pollack Jr. CV, Riese VG *Gastroesophageal Reflux Disease*. In: Pollack Jr. C. (eds) *Differential Diagnosis of Cardiopulmonary Disease*. Springer, Cham, 2019. pp. 441-449 doi: 10.1007/978-3-319-63895-9_30
7. Shah LL, Daack–Hirsch S. Family communication about genetic risk of hereditary cardiomyopathies and arrhythmias: an integrative review. *Journal of genetic counseling*. 2018;27(5):1022-1039. doi: 10.1007/s10897-018-0225-9
8. Benschop L, Schalekamp–Timmermans S, Roeters van Lennep, JE, Jaddoe VW, Steegers EA, Ikram MK. Cardiovascular risk factors track from mother to child. *Journal of the American Heart Association*. 2018;7(19):e009536. doi: 10.1161/JAHA.118.009536
9. Tomchik NV, Lyalikov SA, Sushchevich NV. Prognosticheskaya model' aritmicheskogo sindroma na osnove rezul'tatov kliniko-instrumental'nogo issledovaniya u detej s malymi serdechnymi anomalijami. *Medicinskie novosti*, 2017;(5):57-60.
10. Roston TM. *Genetic Cardiac Arrhythmias in the Young: From Population Trends to Cellular Mechanisms (Doctoral dissertation, University of Alberta)*. 2020. 181 p. doi: 10.7939/r3-7qwx-dy74
11. Kovalyov IA, Usenkov SYU, Svincova, LI. [Cardiac arrhythmias in newborns and young children: the nature of the course and perinatal risk factors for arrhythmias]. *Byulleten' sibirskoj mediciny*, 2013;12(6):31-37.
12. Kuchuk VA, Ruban, AP. (2020). [Structure and pathogenetic factors of arrhythmias in newborns]. *Sovremennye dostizheniya molodyh uchenyh v medicine – 2020: materialy nauchno-praktychnoi konferencii* [Proceedings of scientific conference: modern achievements of young scientists in medicine – 2020]. Grodno, 2020, pp. 143-145. (in Russian).
13. Stepanova OS, Bushueva EV, Bushuev VI (2016). [Features of the heart in children of the first year of life, taking into account the body weight at birth]. *Rossiiskij vestnik perinatologii i pediatrii*. 2016;61 (3):230-230.

(received 17.10.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 17.10.2021, опубліковано 29.12.2021)



Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements/Подяка

We are grateful to the patients who participated in the study, as well as to the specialists who made a significant contribution to the instrumental examination of patients.

Information about the authors/Відомості про авторів

Herasymova Oksana Mykolayivna

Postgraduate student

Department of Pediatrics

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

58 Amosova Street, Kharkiv, Ukraine, 61176

E-mail: oleksiisenik@ukr.net

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7516-7425>

Tel.: 093-405-85-40

Savvo Volodymyr Mykhaylovych

PhD in Medical Science, associate professor

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

58 Amosova Street, Kharkiv, Ukraine, 61176

E-mail: savvovm50@gmail.com

Tel.: 050-289-24-02

Abstract

Vasyl B. Kushnir

ORCID:0000-0002-0545-6838

Department of Tuberculosis, Pulmonology and Family Medicine, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine;

Department of General and Clinical Immunology and Allergology, V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

INDICATORS OF CLINICAL, RADIOLOGICAL, AND LABORATORY STATUS IN MALE PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED INFILTRATIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

Introduction. In Ukraine, despite the free medical care in the field of tuberculosis, the effectiveness of tuberculosis treatment does not meet WHO standards. With the lack of resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to the first-line anti-TB agents, the desired improvement in clinical and radiological results in the first 2 months of treatment is not always possible to achieve. The causes of the poor efficiency remain unknown and require detailed study.

The objective was to study clinical, radiological, and laboratory data of male inpatients with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis at the beginning of treatment.

Materials and Methods. 133 men with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis sensitive to the first-line anti-TB agents were examined. The data of clinical, radiological, and laboratory parameters were studied; immunological parameters of IL-4, IL-10, IFN- γ , and data of phagocytic activity of neutrophils were additionally examined. All patients were tested for anxiety and depressive disorders using the State-Trait Anxiety Inventory and Beck Depression Inventory.

Results. It was found that at the beginning of treatment, patients with pulmonary destruction cavities had a 2.7-fold higher incidence of intensive bacterial excretion and a 1.6-fold reduction in IFN- γ levels as compared with patients without lung tissue destruction. Men with an extended infiltrative process in the lungs presented with fever and symptoms of intoxication more than 2.5 times more often, with cough – more than 4 times more often, with a history of weight loss – more than 2.9 times more often, with *Mycobacterium tuberculosis* detected by microscopy – more than 6.2 times more often vs. men with a limited process in the lungs.

Conclusions. Patients with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis who had destructive changes in lung tissue and a significant extension of the pathological process were characterized by more pronounced clinical manifestations, intoxication, activation of systemic inflammatory response factors, decreased activity of the cellular immune system, and psychological disorders.

Keywords: newly diagnosed pulmonary tuberculosis, infiltrative tuberculosis, clinical data, laboratory data, symptoms, bacterial excretion.

Corresponding author:

Vasyl B. Kushnir, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine; V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine
e-mail: dikaryok@gmail.com

Резюме

Василь Б. Кушнір

ORCID:0000-0002-0545-6838

кафедра фтизіатрії, пульмонології та сімейної медицини Харківської медичної академії післядипломної освіти, м. Харків, Україна;

кафедра загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна

ПОКАЗНИКИ КЛІНІКО-РЕНТГЕНОЛОГІЧНОГО ТА ЛАБОРАТОРНОГО СТАТУСУ У ХВОРИХ ЧОЛОВІЧОЇ СТАТІ З ВПЕРШЕ ВИЯВЛЕНИМ ІНФІЛЬТРАТИВНИМ ТУБЕРКУЛЬОЗОМ ЛЕГЕНЬ

Вступ. В Україні, при наявності безкоштовної медицини в сфері фтизіатрії, ефективність лікування туберкульозу не досягає поставлених ВООЗ норм. При відсутності резистентності мікобактерій туберкульозу до I ряду протитуберкульозних препаратів не завжди вдається досягти бажаної клініко-рентгенологічної динаміки за перші 2 місяці лікування. Причини низької ефективності даного процесу залишаються відкритими та потребують детального вивчення.

Метою роботи було дослідження клініко-рентгенологічних та лабораторних показників хворих на вперше діагностований інфільтративний туберкульоз легень на етапі початку лікування в умовах стаціонару.

Матеріали та методи. Було обстежено 133 чоловіки із вперше діагностованим інфільтративним туберкульозом легень зі збереженою чутливістю до I ряду протитуберкульозних препаратів. Вивчено дані клінічних, рентгенологічних та лабораторних показників, додатково проводилось обстеження імунологічних параметрів IL-4, IL-10, γ -INF та даних фагоцитарної активності нейтрофілів. Усі пацієнти пройшли тестування для визначення тривожно-депресивних розладів за допомогою опитувальників Спілбергера-Ханіна та Бека.

Результати дослідження. Встановлено, що на початку лікування пацієнти з порожнинами розпаду в легенях мали в 2,7 разів більшу частоту масивного бактеріовиділення та зниження рівня γ -INF у 1,6 разів у порівнянні з хворими без деструкції легеневої тканини. У чоловіків з поширеним інфільтративним процесом у легенях підвищення температури та симптоми інтоксикації відмічалися частіше ніж у 2,5 рази, кашель – частіше ніж у 4 рази, втрата ваги в анамнезі – частіше ніж у 2,9 рази, виявлення мікобактерій туберкульозу методом мікроскопії – частіше ніж у 6,2 рази проти чоловіків з обмеженим процесом в легенях.

Висновки. Пацієнти із вперше діагностованим інфільтративним туберкульозом легень, які мають деструктивні зміни в легеневій тканині та значну розповсюдженість патологічного процесу характеризуються більш вираженим ступенем інтоксикації, клінічним проявом, активацією факторів системної запальної відповіді, зниженням активності клітинної ланки імунітету та порушеннями психологічного стану.

Ключові слова: вперше виявлений туберкульоз легень, інфільтративний туберкульоз, клінічні дані, лабораторні дані, симптоматика, бактеріовиділення.

Автор, відповідальний за листування:

Василь Б. Кушнір, Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна; Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, м. Харків, Україна
e-mail: dikaryok@gmail.com

How to cite/ Як цитувати статтю: Kushnir VB. Indicators of clinical, radiological, and laboratory status in male patients with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis. *EUMJ*. 2021;9(4):362-372

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):362-372](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):362-372)

Introduction/Вступ

The global issue of tuberculosis, which has been challenging humanity for millennia, remains relevant today. In the structure of causes of infectious disease deaths, tuberculosis has ranked first for a long time [1] and is estimated to hold this position for the next few years [2, 3].

Even though patients stay at the hospital and take medications constantly, it is not always possible to achieve the 85% treatment effectiveness rate recommended by the WHO [4]. That is why improving the effectiveness of pulmonary tuberculosis treatment is a goal of paramount importance in the modern tuberculosis service.

Infiltrative pulmonary tuberculosis is more common than other clinical variants [5] and correlates with a high risk of developing destruction cavities, which are closely associated with bacterial excretion and are an indication for surgery in case of ineffective conservative therapy [6]. Due to the predominance of the exudative type of inflammatory process and the lack of reparative fibrosis in the areas of specific involvement of the lung tissue, the risk of unfavorable course of pulmonary tuberculosis increases [7].

Prolonged hospital stay, stigmatization of the disease, alcohol and drug abuse, smoking, lack of social and material support, drug-induced side effects, and intoxication play a significant role in the prolongation of the pathological process [8, 9]. In case of slow improvement in clinical and radiological study results, persisting bacterial excretion or serious adverse reactions to etiotropic therapy, the duration of the intensive phase of treatment (IP) may be extended to 90 doses by the decision of the Central Medical Advisory Committee (CMAC). Due to the prolongation of IP, the state bears additional expenses, and the patient is exposed to additional psychological pressure [10]. The need to prolong IP is usually justified and aimed at improving the effectiveness of treatment.

Due to innovations in the health care domain, changes in socio-economic standards and trends in

attitude towards health, the current clinical and radiological picture of tuberculosis has undergone significant changes [11]. That is why a detailed study of these parameters at the stage of hospitalization allows us to identify modern features of the tuberculosis process.

Objective. The study of clinical, radiological, and laboratory data of male patients with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis at the beginning of treatment.

Materials and Methods

The research was carried out in 2019–2021 at the Municipal Non-Profit Enterprise of the Kharkiv Regional Council "Regional TB Dispensary No. 1". 133 patients with newly diagnosed infiltrative pulmonary tuberculosis (ND IPTb) were selected for the study.

Inclusion criteria were: male sex, ND IPTb, bacterial excretion confirmed by sputum culture, susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) to first-line anti-TB agents.

Exclusion criteria were: a history of drug abuse; refused treatment; other radiological forms of pulmonary tuberculosis; acute emergencies; acute inflammatory diseases of nontuberculous origin; chronic diseases, i.e. hepatitis, HIV, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), bronchial asthma (BA), cardiovascular diseases, diabetes mellitus, cancer, autoimmune, systemic and mental diseases.

At the baseline, all patients had a chest X-ray and sputum culture analysis to determine the presence of MBT in accordance with the current order of medical care for patients with tuberculosis [12, 13]. Standard laboratory tests were also performed: complete blood count, urine analysis, and blood chemistry.

Additionally, the level of cytokines (IL-4, IL-10, IFN- γ) in blood serum was assayed by three-site solid-phase sandwich ELISA using corresponding anti-IL-4, anti-IL-10 and anti-IFN- γ monoclonal antibodies (ZAO Vector-Best, Russian Federation); ceruloplasmin (CP) level – by Ravin method, and haptoglobin level – by reaction with

rivanol using standard reagent kits (PrAT Reagent, Ukraine).

Standardized self-assessment scales (questionnaires) were used to assess patients' anxiety and depression. These questionnaires can be used by general practitioners without psychiatrist involvement and do not require special training. The anxiety reactions of the respondents were determined using the State-Trait Anxiety Inventory. The patient's distress was evaluated using Beck Depression Inventory (BDI) [14].

The study was conducted in accordance with the requirements of Good Clinical Practice, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine, the Declaration of Helsinki of the World Medical Association and approved by the local Ethics Commission of the Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (Minutes No. 3 dated 12.10.2021). All patients gave their informed consent to participate in the study.

Statistical data were analyzed using the Statistica program. Quantitative data were presented as a mean value (M) and standard deviation (SD). The Mann-Whitney U-test was used to compare the values between groups. The critical value of 0.05 referred to the significance level in a hypothesis test.

Results

The study included 133 male patients aged 18 to 55 years (mean age 39.57 ± 9.01). Among the patients included, 55.6% ($n = 74$) of subjects did not have a regular job, 49.6% ($n = 66$) were unmarried, 89.5% ($n = 119$) were smokers, and 78.2% ($n = 104$) were light drinkers.

According to the questionnaires aimed at detecting anxiety and depression conditions, the Beck Depression Inventory average score was 12.66 ± 6.27 , and the number of patients with no signs of depression, with mild depression and moderate depression was 54.9% ($n = 73$), 35.3% ($n = 47$) and 9.8% ($n = 13$), respectively.

In the main group of patients, State-Trait Anxiety Inventory testing for state anxiety gave a mean score of 31.87 ± 9.6 , and for trait anxiety, it was 26.39 ± 10.43 . According to the questionnaire, no patient showed a high level of state or trait anxiety. Moderate levels of state anxiety were observed in 73.7% ($n = 98$), and trait anxiety – in 36% ($n = 48$) of men.

At the beginning of treatment, symptoms of intoxication were observed in 75.9% ($n = 101$) of patients, and 69.9% ($n = 93$) of patients had hyperthermia and lowgrade fever (37.21 ± 0.48 °C).

In 41.3% ($n = 55$) of men, there was a decrease in body weight by more than 5 kg over the past 2 months. The mean body mass index (BMI) at admission was 21.15 ± 1.78 kg/m², which corresponded to normal values. During a detailed examination, complaints of cough and shortness of breath during exercise were observed in 51.2% ($n = 68$) of subjects, while decreased appetite was reported in 75.9% ($n = 101$) of patients. The average respiratory rate among patients was 19.13 ± 1.77 breaths per minute.

The results of complete blood count at the baseline were as follows: color index – 1.01 ± 0.08 , RBC – $3.73 \pm 0.45 \cdot 10^{12}/L$, HGB – 136.38 ± 15.57 g/L, WBC – $7.02 \pm 1.87 \cdot 10^9/L$, PLT – $244.2 \pm 40.25 \cdot 10^9/L$; ESR – 26.99 ± 12.68 mm/h, i.e. more than twice as much as the normal limits. The WBC differential was as follows: EOS averaged $3.17 \pm 1.44\%$, STAB – $3.48 \pm 1.55\%$, SEG – $62.23 \pm 6.17\%$, LYM – $26.61 \pm 5.96\%$, and MON – $4.52 \pm 2.01\%$. Red blood cell counts and white blood cell counts were within normal limits.

Blood chemistry did not reveal significant abnormalities for the studied parameters. The total protein level equaled 65.36 ± 8.17 g/L, which was the lower limit of normal, as well as its albumin fraction – 37.6 ± 3.51 g/L; creatinine reached the upper limit of normal – 0.10 ± 0.08 mmol/L; urea – 6.00 ± 2.18 mmol/L; cholesterol – 3.95 ± 0.87 mmol/L; bilirubin – 14.34 ± 4.18 μmol/L; thymol test – 2.29 ± 1.14 IU; glucose – 4.67 ± 0.73 mmol/L. Alanine aminotransferase (ALT) was slightly higher than normal – 0.9 ± 0.49 μmol/L, which is one and a half times higher than normal, while the level of aspartate aminotransferase (AST) was 0.55 ± 0.27 μmol/L, which exceeded normal values by 1.2 times.

Acute-phase proteins were studied separately. There was an increase in the levels of haptoglobin up to 2.37 ± 0.9 g/L and ceruloplasmin up to 495.3 ± 85.6 mg/L. The level of C-reactive protein (CRP) averaged 17.33 ± 7.90 mg/L, which is almost 3 times as much as the normal values.

When studying immunological parameters, we paid attention to some cytokines, namely: the level of IL-4 at the baseline was 0.35 ± 0.46 pg/mL, IL-10 – 4.89 ± 3.35 pg/mL, and IFN-γ – 3.35 ± 2.18 pg/mL.

CD4/CD8 ratio in the majority of patients showed normal values = 2.18 ± 0.27 . The level of circulating immune complexes (CIC) at admission was elevated – 138.29 ± 59.06 IU. The phagocytic number (PhN) was 3.44 ± 1.32 , while the phagocytic index (PhI) equaled $79.71 \pm 8.91\%$; the

index of phagocytosis completeness (PhCI) was 1.05 ± 0.16 . Among the indicators of phagocytic activity in the main group of patients, no significant abnormalities were in general observed.

According to the results of X-ray examination, 24.8% ($n = 33$) of patients had limited infiltrative changes in the lungs, which did not involve more than 2 segments of one lung; in 40.6% ($n = 54$) of subjects, the process involved more than 2 segments within one lung, and in 34.6% ($n = 46$) of cases, the tuberculosis process was observed in both lungs. The destructive changes were observed in 60.1% ($n = 80$) of patients; among them, 70% ($n = 56$) had less than 2 destruction cavities visualized, and in the remaining 30% ($n = 24$) of cases, there were 3 or more caverns.

MBT were detected in all patients with ND IPTb at the baseline; among them, intensive bacterial excretion (M +) was detected by smear microscopy in 58.6% ($n = 78$) of patients; 80.8% ($n = 63$) of these were clinical cases with destructive changes.

Detailed distribution of clinical, radiological, and laboratory data with regard to the extension of the tuberculosis process and the presence of destructive changes in the lungs are shown in Tables 1 and 2.

The results of the study showed that destructive changes in the lungs were associated with hyperthermia and lowgrade fever; intoxication syndrome; cough; weight loss of more than 5 kg in the past 2 months; mild to moderate depression; moderate state and trait anxiety; the spread of the infiltrative process of the lungs; bacterial excretion; marked increase in ESR and decreased total protein level; suppression of the proinflammatory immune response expressed in low levels of IFN- γ against the background of normal values of IL-4 and IL-10; a significant increase in haptoglobin and ceruloplasmin levels as indicators of the inflammatory response; decreased phagocytic activity represented by the reduced PhI and PhN.

Analysis of clinical, radiological, and laboratory data with regard to the extension of the tuberculosis process demonstrated a close correlation between the spread of infiltrative changes and numerous parameters. The extension of tuberculosis was strongly associated with intensive bacterial excretion, destructive changes in the lungs, hyperthermia and lowgrade fever, cough, intoxication syndrome, anxiety and depressive disorders, increased haptoglobin, and ESR. It was also found that the group of patients with both

lungs involved differed from other groups. Thus, these patients had a history of a more pronounced decrease in BMI and body weight; a greater decrease in IFN- γ , PhN, PhI, PhCI levels; and a more significant increase in ceruloplasmin level.

The results showed that patients with ND IPTb demonstrated deterioration in a number of clinical, radiological, and laboratory data that correlated with extension of the infiltrative process and the number of destruction cavities. First of all, we should pay attention to the correlation between the frequency of intensive bacterial excretion and the presence of destruction cavities, which increased the risk of microscopic detection of MBT in sputum by 2.7 times. In the case of extended radiological forms of tuberculosis (involving more than 2 segments of one or both lungs), the risk of MBT detection using this method increased by 6.2 times as compared to limited forms (involving no more than 2 segments).

Clear results were observed for the connection between destruction cavities and extended forms of the infiltrative process [15, 16]. The more extended the pathological process, the more likely the destruction.

Among the complaints, special attention was paid to cough, which was three times more common in patients with destructive changes, and ≥ 4 times more common in patients with the extended pathological process. Patients with destructive and extended forms of tuberculosis had a history of weight loss in the past 2 months more than twice as frequently. The severity of intoxication and temperature rise was 1.5 times greater in men with destruction cavities in the lungs. The same symptoms were more than twice as common in patients with the extended infiltrative process.

As for the laboratory data, ESR was 1.2 times higher in patients with destruction cavities and 1.7 times higher in patients with the extended process. A decrease by 1.6 and 1.3 times in IFN- γ and PhN levels, respectively, was observed in patients with destructive changes; by 1.2 and 1.1 times – in patients with extended tuberculosis within one lung, and by 2.6 and 1.57 times – in patients with the extended pathological process in both lungs. Haptoglobin and ceruloplasmin levels were 1.5 and 1.2 times higher in men with destructive changes. The same parameters were 1.9 and 1.3 times higher in patients with extended tuberculosis involving both lungs as compared with limited tuberculosis forms.

Table 1 – Distribution of the clinical, radiological, and laboratory parameters with regard to the destructive changes in the lungs

Parameter	No destructive changes in the lungs	Destructive changes in the lungs	p
BMI, kg/m ²	19.80 ± 1.81	19.58 ± 1.78	p = 0.810
Smoking, %	83 (n = 44)	93.7 (n = 75)	p = 0.168
Body temperature rise, %	54.7 (n = 29)	80 (n = 64)	p < 0.001
Body temperature, °C	37.03 ± 0.48	37.34 ± 0.44	p < 0.001
Intoxication, %	56.6 (n = 30)	88.75 (n = 71)	p < 0.001
Cough, %	22.64 (n = 12)	70 (n = 56)	p < 0.001
A history of weight loss, %	15.09 (n = 8)	58.75 (n = 47)	p < 0.001
Beck Depression Inventory, average score	10.17 ± 4.07	14.36 ± 6.90	p < 0.001
No depression, %	77.36 (n = 41)	40 (n = 32)	p = 0.002
Mild depression, %	22.64 (n = 12)	43.75 (n = 35)	p < 0.001
Moderate depression, %	0 (n = 0)	16.23 (n = 13)	p < 0.001
State-Trait Anxiety Inventory, average score:			
- State anxiety	27 ± 11.2	35.19 ± 6.63	p < 0.001
- Trait anxiety	21.89 ± 8.37	29.24 ± 10.67	p = 0.01
Mild state anxiety, %	52.83 (n = 28)	8.75 (n = 7)	p < 0.001
Moderate state anxiety, %	47.17 (n = 25)	91.25 (n = 73)	p < 0.001
Mild trait anxiety, %	86.8 (n = 46)	48.75 (n = 39)	p = 0.003
Moderate trait anxiety, %	13.2 (n = 7)	51.25 (n = 41)	p = 0.003
Extension of the infiltrate, %:			
- Up to 2 segments within one lung	43.4 (n = 23)	12.5 (n = 10)	p < 0.001
- More than 2 segments within one lung	35.85 (n = 19)	43.75 (n = 35)	p < 0.001
- Both lungs	20.75 (n = 11)	43.75 (n = 35)	p < 0.001
M+	28.3 (n = 15)	78.75 (n = 63)	p < 0.001
RBC, 10 ¹² /L	3.62 ± 0.46	3.80 ± 0.44	p = 0.008
Hb, g/L	136.72 ± 17.45	136.15 ± 14.30	p = 0.658
ESR, mm/h	23.83 ± 12.02	29.09 ± 12.75	p = 0.047
WBC, 10 ⁹ /L	7.21 ± 1.86	6.89 ± 1.87	p = 0.071
NEU, %	66.66 ± 5.49	65.08 ± 6.57	p = 0.118
SEG, %	63.64 ± 5.75	61.29 ± 6.30	p = 0.047
LYM, %	26.26 ± 5.20	26.84 ± 6.43	p = 0.236
MON, %	4.21 ± 1.84	4.73 ± 2.10	p = 0.166
ALC	1.86 ± 0.52	1.82 ± 0.58	p = 0.391
Total protein, g/L	67.88 ± 8.09	63.69 ± 7.84	p = 0.039
ALT, μmol/L	0.82 ± 0.47	0.96 ± 0.49	p = 0.417
AST, μmol/L	0.52 ± 0.25	0.57 ± 0.28	p = 0.519
IL-4, pg/mL	0.32 ± 0.35	0.37 ± 0.52	p = 0.935
IL-10, pg/mL	4.84 ± 2.43	4.92 ± 3.86	p = 0.915
IFN-γ, pg/mL	5.12 ± 1.88	2.18 ± 1.46	p < 0.001
Haptoglobin, g/L	1.78 ± 0.68	2.73 ± 0.89	p < 0.001
Ceruloplasmin, mg/L	429.02 ± 86.22	512.79 ± 71.47	p < 0.001
CRP, mg/L	16.92 ± 7.85	17.60 ± 7.98	p = 0.725
CD4/CD8	2.1 ± 0.17	2.23 ± 0.31	p = 0.008
CIC, IU	125.25 ± 58.4	146.94 ± 58.25	p = 0.252
PhI, %	84.89 ± 6.72	76.28 ± 8.54	p < 0.001
PhN	4.25 ± 0.97	2.91 ± 1.25	p < 0.001
PhCI	1.10 ± 0.13	1.01 ± 0.16	p = 0.052

Table 2 – Distribution of the clinical, radiological, and laboratory parameters with regard to the extension of the infiltrative process in the lungs

Parameter	Up to 2 segments within one lung	More than 2 segments within one lung	Both lungs	p
BMI, kg/m ²	19.92 ± 1.52	19.95 ± 1.84	19.15 ± 1.83	p ₁₋₂ = 0.321 p ₁₋₃ = 0.067 p ₂₋₃ = 0.033
Smoking, %	84.84 (n = 28)	85.19 (n = 46)	97.83 (n = 45)	p ₁₋₂ = 1.000 p ₁₋₃ = 0.103 p ₂₋₃ = 0.018
Body temperature rise, %	27.27 (n = 9)	75.93 (n = 41)	93.48 (n = 43)	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ = 0.057
Body temperature, °C	36.80 ± 0.39	37.23 ± 0.42	37.49 ± 0.37	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
Intoxication, %	36.36 (n = 12)	83.33 (n = 45)	95.65 (n = 44)	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ = 0.032
Cough, %	12.12 (n = 4)	48.15 (n = 26)	82.61 (n = 38)	p ₁₋₂ = 0.051 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
A history of weight loss, %	12.12 (n = 4)	35.79 (n = 19)	69.57 (n = 32)	p ₁₋₂ = 0.083 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
Beck Depression Inventory, average score	10.42 ± 4.97	11.67 ± 5.66	15.52 ± 6.82	p ₁₋₂ = 0.687 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ = 0.001
No depression, %	69.7 (n = 23)	61.11 (n = 33)	36.96 (n = 17)	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ = 0.012 p ₂₋₃ < 0.001
Mild depression, %	30.3 (n = 10)	33.33 (n = 18)	41.3 (n = 19)	p ₁₋₂ = 0.003 p ₁₋₃ = 0.002 p ₂₋₃ = 0.323
Moderate depression, %	0 (n = 0)	5.56 (n = 3)	21.74 (n = 10)	p ₁₋₂ = 0.160 p ₁₋₃ = 0.002 p ₂₋₃ = 0.007
State-Trait Anxiety Inventory, state anxiety average score	25.52 ± 11.32	34.31 ± 8.18	33.72 ± 7.7	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ = 0.713
Mild state anxiety, %	60.6 (n = 20)	12.96 (n = 7)	17.39 (n = 8)	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ = 0.533
Moderate state anxiety, %	39.4 (n = 13)	87.04 (n = 47)	82.61 (n = 38)	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ = 0.533
State-Trait Anxiety Inventory, trait anxiety average score	19.36 ± 6.98	25.48 ± 10.23	32.26 ± 9.41	p ₁₋₂ = 0.251 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
Mild trait anxiety, %	96.97 (n = 32)	68.52 (n = 37)	34.78 (n = 16)	p ₁₋₂ = 0.103 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
Moderate trait anxiety, %	3.03 (n = 1)	31.48 (n = 17)	65.22 (n = 30)	p ₁₋₂ = 0.103 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
Number of cavities, %				
- ≤ 2 segments	27.27 (n = 9)	57.41 (n = 31)	34.78 (n = 16)	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ = 0.006 p ₂₋₃ < 0.001
- > 2 segments	3.03 (n = 1)	7.41 (n = 4)	41.3 (n = 19)	p ₁₋₂ = 0.083 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
M+	12.12 (n = 4)	74.07 (n = 40)	73.91 (n = 34)	p ₁₋₂ < 0.001 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ = 0.811

Parameter	Up to 2 segments within one lung	More than 2 segments within one lung	Both lungs	p
RBC, $10^{12}/L$	3.63 ± 0.41	3.70 ± 0.32	3.82 ± 0.58	$p_{1-2} = 0.184$ $p_{1-3} = 0.054$ $p_{2-3} = 0.177$
Hb, g/L	140.42 ± 11.28	137.06 ± 12.71	132.67 ± 20.09	$p_{1-2} = 0.804$ $p_{1-3} = 0.116$ $p_{2-3} = 0.165$
ESR, mm/h	17.27 ± 5.96	29.11 ± 11.59	31.48 ± 13.89	$p_{1-2} < 0.001$ $p_{1-3} < 0.001$ $p_{2-3} = 0.471$
WBC, $10^9/L$	7.51 ± 1.93	7.20 ± 1.87	6.45 ± 1.7	$p_{1-2} = 0.249$ $p_{1-3} < 0.001$ $p_{2-3} = 0.117$
NEU, %	65.85 ± 5.97	65.87 ± 6.37	65.41 ± 6.25	$p_{1-2} = 0.375$ $p_{1-3} = 0.93$ $p_{2-3} = 0.77$
SEG, %	62.52 ± 6.14	62.44 ± 6.2	61.76 ± 6.27	$p_{1-2} = 0.378$ $p_{1-3} = 0.965$ $p_{2-3} = 0.988$
LYM, %	26.52 ± 5.86	26.3 ± 6.36	27.04 ± 5.63	$p_{1-2} = 0.505$ $p_{1-3} = 0.617$ $p_{2-3} = 0.843$
MON, %	4.58 ± 1.82	4.54 ± 1.98	4.46 ± 2.21	$p_{1-2} = 0.516$ $p_{1-3} = 0.616$ $p_{2-3} = 0.814$
LYM, g/L	1.95 ± 0.58	1.84 ± 0.49	1.74 ± 0.59	$p_{1-2} = 0.629$ $p_{1-3} = 0.025$ $p_{2-3} = 0.274$
Total protein, g/L	66.43 ± 8.65	65.12 ± 7.88	64.87 ± 8.26	$p_{1-2} = 0.902$ $p_{1-3} = 0.58$ $p_{2-3} = 0.536$
ALT, $\mu\text{mol/L}$	0.86 ± 0.5	0.85 ± 0.44	1.01 ± 0.52	$p_{1-2} = 0.985$ $p_{1-3} = 0.901$ $p_{2-3} = 0.071$
AST, $\mu\text{mol/L}$	0.54 ± 0.25	0.52 ± 0.27	0.58 ± 0.28	$p_{1-2} = 0.831$ $p_{1-3} = 0.752$ $p_{2-3} = 0.422$
IL-4, pg/mL	0.27 ± 0.35	0.45 ± 0.54	0.28 ± 0.40	$p_{1-2} = 0.157$ $p_{1-3} = 0.86$ $p_{2-3} = 0.149$
IL-10, pg/mL	4.75 ± 3.21	5.52 ± 3.47	4.25 ± 3.25	$p_{1-2} = 0.08$ $p_{1-3} = 0.371$ $p_{2-3} = 0.06$
IFN- γ , pg/mL	4.85 ± 1.92	3.72 ± 1.97	1.83 ± 1.62	$p_{1-2} = 0.221$ $p_{1-3} < 0.001$ $p_{2-3} < 0.001$
Haptoglobin, g/L	1.59 ± 0.60	2.19 ± 0.66	3.09 ± 0.88	$p_{1-2} = 0.026$ $p_{1-3} < 0.001$ $p_{2-3} < 0.001$
Ceruloplasmin, mg/L	419.89 ± 64.37	471.69 ± 84.35	531.16 ± 76.12	$p_{1-2} = 0.057$ $p_{1-3} < 0.001$ $p_{2-3} < 0.001$
CRP, mg/L	16.16 ± 8.00	17.63 ± 8.07	18.47 ± 7.49	$p_{1-2} = 0.441$ $p_{1-3} = 0.298$ $p_{2-3} = 0.465$
CD4/CD8	2.18 ± 0.25	2.15 ± 0.25	2.20 ± 0.30	$p_{1-2} = 0.938$ $p_{1-3} = 0.896$ $p_{2-3} = 0.407$
CIC, IU	133.06 ± 58.82	135.39 ± 61.21	145.46 ± 57.24	$p_{1-2} = 0.852$ $p_{1-3} = 0.838$ $p_{2-3} = 0.275$
PhI, %	85.52 ± 5.04	80.43 ± 8.10	74.7 ± 9.29	$p_{1-2} = 0.01$ $p_{1-3} < 0.001$ $p_{2-3} = 0.002$

Parameter	Up to 2 segments within one lung	More than 2 segments within one lung	Both lungs	p
PhN	4.21 ± 1.07	3.64 ± 1.18	2.67 ± 1.24	p ₁₋₂ = 0.394 p ₁₋₃ < 0.001 p ₂₋₃ < 0.001
PhCI	1.13 ± 0.14	1.08 ± 0.13	0.96 ± 0.16	p ₁₋₂ = 0.68 p ₁₋₃ = 0.001 p ₂₋₃ < 0.001

Note: ₁, ₂ and ₃ indexes for the p-value correspond to group numbers

The evaluation of the psychological state of patients requires a separate analysis. It was demonstrated that depressive and anxiety disorders were twice as common in patients with destructive forms of tuberculosis. In the cases of extended tuberculosis process involving both lungs, the cases of mild and moderate depression were more frequent as compared to limited forms of tuberculosis. Moderate state anxiety was twice as prevalent in patients with extended forms of tuberculosis. Moderate trait anxiety was rare in groups with limited forms of tuberculosis, but was twice as common in patients with the pathological

process involving both lungs vs. extended infiltrative changes in one lung.

Thus, in patients with ND IPTb, the presence of destructive changes in lung tissue and a great extension of tuberculosis were determinants of clinical, radiological, and laboratory status, which predetermined the features of the disease. These parameters characterized more expressed degrees of intoxication, clinical manifestations, activation of systemic inflammatory response factors, decreased activity of the cellular immune system, and psychological disorders.

Conclusions/Висновки

Working-age men with ND IPTb manifested with extended pulmonary processes and destructive changes in lung tissue in 75.2% and 60.1% of cases, respectively; intensive bacterial excretion – in 58.65% of cases; symptoms of intoxication – in 75.9% of cases; increased haptoglobin, ceruloplasmin, and C-reactive protein (CRP) with average values of 2.37 ± 0.9 g/L, 495.3 ± 85.6 mg/L and 17.33 ± 7.90 mg/L, respectively; mild or moderate anxiety in 100% of cases and symptoms of mild or moderate depression according to the Beck Depression

Inventory – in 45.1% of cases.

In patients with ND IPTb, the presence of destructive changes in lung tissue and greater extension of tuberculosis were closely associated with more intensive bacterial excretion, severe intoxication and cough, the history of weight loss, more expressed activation of a systemic inflammatory response (increased ESR, haptoglobin, ceruloplasmin levels), imbalance of immune status parameters (greater decrease in IFN-γ and PhN), as well as psychological disorders represented by the most common symptoms of depression and anxiety.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Further research suggests the study of the clinical, radiological, and laboratory parameters after the intensive phase of treatment and comparison of them with the baseline data.

References/Список літератури

1. Harding E. WHO global progress report on tuberculosis elimination. *Lancet Respir Med*. 2020;8(1):19. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(19\)30418-7](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(19)30418-7)
2. Mandalakas AM, Cobelens F. Tuberculosis-making predictions, especially about the future. *The Lancet Infectious Diseases*. 2017;17(11):1106-1107. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(17\)30492-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(17)30492-9)
3. Koegelenberg CFN, Schoch OD, Lange C. (2021). Tuberculosis: The past, the present and the future. *Respiration*. 2021;100(7):553-556. <https://doi.org/10.1159/000516509>
4. *Tuberkuloz v Ukrayini: analitychno-statystychnyy dovidnyk za 2020 rik* [Tuberculosis in Ukraine: Analytical and statistical reference book for 2020. State Institution "Public Health Center of the Ministry of Health of Ukraine"]. Retrieved

- from: <https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/tuberkuloz/statistika-z-tb/analitichno-statistichni-materiali-z-tb>
5. Krysl J, Korzeniewska-Kosela M, Müller NL, FitzGerald JM. Radiologic features of pulmonary tuberculosis: an assessment of 188 cases. *Canadian Association of Radiologists Journal = Journal L'association Canadienne des Radiologistes*. 1994;45(2):101-107.
 6. Feshchenko YI, Melnik VM, Opanasenko MS. *Neefektyvne likuvannya khvorykh na tuberkuloz lehen i yoho poperedzhennya* [Ineffective treatment of patients with pulmonary tuberculosis and its prevention]. Kyiv: Lira-K, 2019. 245 p. Retrieved from: <https://kingmed.info/media/book/5/4451.pdf>
 7. Hunter RL. The pathogenesis of tuberculosis—the Koch phenomenon reinstated. *Pathogens*. 2020;9(10):813. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100813>
 8. Hrek I, Kochuieva M, Klimova O, Rohozhyn A, Kushnir V. Clinical and laboratory portraits of patients with tuberculosis and alcohol consumption. *ScienceRise: Medical Science*. 2020;2(35):10–14. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2020.199602>
 9. Melnyk VM, Novozhylova IA, Matusevych VG. The problem of low efficiency of treatment of patients with pulmonary tuberculosis. *Ukrainian Pulmonology Journal*. 2019;103(1):25–32. <https://doi.org/10.31215/2306-4927-2019-103-1-25-32>
 10. Diel R, Vandeputte J, de Vries G, Stillo J, Wanlin M, Nienhaus A. Costs of tuberculosis disease in the European Union: A systematic analysis and cost calculation. *European Respiratory Journal*. 2013;43(2):554–565. <https://doi.org/10.1183/09031936.00079413>
 11. Lehan VM, Kryachkova LV, Zayarsky MI. Analiz reform okhorony zdorovya v Ukraini: vid zdobuttya nezalezhnosti do suchasnosti [Analysis of health care reforms in Ukraine: from gaining independence to the present]. *Ukraine. Nation's Health*. 2018;4(52):5-11. Retrieved from: <https://repo.dma.dp.ua/id/eprint/4969>
 12. Ministry of Health of Ukraine. *Unifikovanyi klinichniyi protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy. Tuberkuloz. Nakaz MOZ 04.09.2014 No. 620* [Unified clinical protocol for primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care for adults. Tuberculosis (No. 620)]. Retrieved from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0620282-14#Text>
 13. *Nakaz MOZ Ukrayiny vid 25.02.2020 N 530 «Pro zatverdzhennya standartiv okhorony zdorovya pry tuberkulozi»* [Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 25.02.2020 N 530 «On approval of health care standards for tuberculosis»]. Retrieved from: https://phc.org.ua/sites/default/files/users/user90/Nakaz_MOZ_vid_25.02.2020_530_Standart_y_medopomogy_pry_TB.pdf
 14. Karelin A. *Bolshaja jenciklopedija psihologicheskikh testov* [Great encyclopedia of psychological tests]. – Moscow: Eksmo Publ, 2007. 411 p.
 15. Van Dyck P, Vanhoenacker FM, Van den Brande P, De Schepper AM. Imaging of pulmonary tuberculosis. *European Radiology*. 2003;13(8):1771–1785. <https://doi.org/10.1007/s00330-002-1612-y>
 16. Eini P, Owaysee Osquee H, Sajjadi Nasab M, Nasiroghli Khiyabani F, Rahighi AH. Chest radiological features among patients with smear positive pulmonary tuberculosis. *Caspian journal of internal medicine*. 2013;4(4):777–780. Retrieved from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3841779/>

(received 26.10.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 26.10.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements/Джерела фінансування

The research is a part of the PhD thesis of Vasyl Borysovych Kushnir, a postgraduate student of the Department of Tuberculosis, Pulmonology, and Family Medicine. Financing from own resources.



Information about the authors/Відомості про авторів

Кушнір Василь Борисович – аспірант кафедри фтизіатрії, пульмонології та сімейної медицини Харківської медичної академії післядипломної освіти, вул. Амосова, 58, м. Харків; асистент кафедри загальної та клінічної імунології та алергології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, пл. Свободи, 6, м. Харків, Україна

e-mail: dikaryok@gmail.com

тел.: +380966213989

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0545-6838>

Abstract

¹Halyna V. Kulinich

ORCID: 0000-0002-0636-9621

¹Elvira B. Prohorova

ORCID: 0000-0002-4519-6436

^{1,2,3}Fedir V. Hladkykh

ORCID: 0000-0001-7924-4048

¹State Institution «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine;

²Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine;

³Vasyl Stus Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraine

CHARACTERISTICS OF SKIN ELECTRICAL CONDUCTANCE IN PATIENTS WITH BREAST CANCER AND HIGH RISK OF RADIATION THERAPY- RELATED COMPLICATIONS

Background. Radiation therapy (RT) is one of the main methods of treating cancer, including breast cancer (BC). This is one of the most knowledge-intensive medical industries, which is based on the latest advances in radiobiology, chemistry, radiation physics, engineering and others. Effective PT involves the use of fairly high doses of radiation, which is what determines the success of comprehensive treatment, in particular the increase in the number of patients who survived 5 years or more. In turn, the increase in survival after a course of combination treatment leads to an increase in the absolute number of patients with adverse treatment outcomes, including radiation-related complications (RC).

The aim of the work was to characterize the changes in the skin electrical conductance in patients with breast cancer and an increased risk of RC.

Materials and methods. The study was conducted on the basis of the clinic of the Grigoriev Institute of Medical Radiology and Oncology of NAMS of Ukraine. To study the skin electrical conductance, 16 patients with BC with an increased risk of RC were selected, with a mean age of 53.8 ± 3.7 (95% CI: 46.6–61.0) years. Studies of tissue electrical conductance were performed using the device "Electrodermatometer", measuring the indicators: modulus of complex impedance, impedance angle, complex impedance, and electrical capacity.

Results and discussion. The study showed that in patients with BC and increased risk of RC, there was a decrease in the complex impedance of tissues at the study points during RT. The modulus of complex impedance at the mitral area decreased by only 6.8% ($p > 0.05$), while at the aortic, pulmonic and tricuspid areas, this figure was significantly ($p < 0.05$) decreased by 27.0%; 26.2% and 33.0%, respectively, relative to the initial indicators for RT. It was found that the most pronounced changes in the skin electrical conductance in patients with BC at risk of RC were observed at the projection points of the tricuspid and pulmonic areas, where these indicators were significantly ($p < 0.05$) increased by 41.1% and 34.2% relative to the baseline and equaled 9.8 ± 0.89 pF and 9.8 ± 0.88 pF, respectively.

Conclusions. In patients with breast cancer at risk of RC, there was a statistically significant decrease ($p < 0.05$) in the value of the modulus of

complex impedance by an average of 23.3% and a statistically significant increase ($p < 0.05$) in the tissue electrical conductance by an average of 29.8% relative to the baseline during radiation therapy.

Keywords: breast cancer, electrical conductance, impedance, radiation therapy.

Corresponding author:

Fedir V. Hladkykh, State Institution «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology», Kharkiv, Ukraine; Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine, Kharkiv, Ukraine; Vasyl Stus Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraine
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

Резюме

¹Галина В. Кулініч

ORCID: 0000-0002-0636-9621

¹Ельвіра Б. Прохорова

ORCID: 0000-0002-4519-6436

^{1,2,3}Федір В. Гладких

ORCID: 0000-0001-7924-4048

¹Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна;

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, м. Харків, Україна;

³Донецький національний університет імені Василя Стуса, м. Вінниця, Україна

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕЛЕКТРОПРОВІДНОСТІ ШКІРНИХ ПОКРИВІВ У ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ З ПІДВИЩЕНИМ РИЗИКОМ УСКЛАДНЕНЬ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ

Актуальність. Променева терапія (ПТ) належить до основних методів лікування онкологічних захворювань, зокрема й хворих на рак грудної залози (РГЗ). Це одна з найбільш наукомістких медичних галузей, яка базується на новітніх досягненнях радіобіології, хімії, радіаційній фізики, техніки та ін. Ефективна ПТ передбачає використання досить високих доз опромінення, що саме і зумовлює успіх комплексного лікування, зокрема збільшення контингенту пацієнтів, що вижили 5 і більше років. У свою чергу, збільшення терміну виживання після проведеного курсу комбінованого лікування зумовлює збільшення абсолютного числа хворих із несприятливими наслідками лікування, зокрема променевими ускладненнями (ПУ).

Мета роботи – охарактеризувати зміни електропровідності шкірних покривів у хворих на рак грудної залози з підвищеним ризиком ПУ.

Матеріали та методи. Дослідження проведене на базі клініки Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва НАМН України». Для вивчення електропровідності шкірних покривів обрано 16 хворих на РГЗ з підвищеним ризиком ПУ, середнім віком $53,8 \pm 3,7$ (95 % ДІ: 46,6–61,0) роки. Дослідження електропровідності тканин проводили за допомогою приладу «Електродерматометр», вимірюючи показники: модуль комплексного опору, аргумент комплексного опору, повний активний електричний опір та електричну ємність.

Результати та їх обговорення. Проведене дослідження показало, що у хворих на РГЗ групи підвищеного ризику ПУ, під час проведення ПТ відмічалось зниження показника повного комплексного опору тканин в досліджуваних точках. Модуль комплексного опору в точці аускультатії мітрального клапана серця знизився лише на 6,8 % ($p > 0,05$), в той час як в точках аускультатії аортального, клапана легеневої артерії та тристулкового клапанів зазначений показник статистично вірогідно ($p < 0,05$) знизився на 27,0 %; 26,2 % та 33,0 % відповідно відносно вихідних показників до ПТ. Встановлено, що найвиразніші зміни з боку ємності електропровідності шкірних покривів у хворих на РГЗ групи ризику ПУ відмічені в точках проекції тристулкового клапана та клапана легеневої артерії, де вказані показники статистично вірогідно ($p < 0,05$) збільши-

лись відповідно на 41,1 % та 34,2 % відносно вихідних показників до ПТ і становили відповідно $9,8 \pm 0,89$ пФ та $9,8 \pm 0,88$ пФ.

Висновки. У хворих на рак грудної залози групи ризику ПУ відмічено статистично вірогідне зниження ($p < 0,05$) значення модуля комплексного електричного опору в середньому на 23,3 % та статистично вірогідне зростання ($p < 0,05$) ємності електропровідності тканини в середньому на 29,8 % відносно вихідних показників в динаміці променевої терапії.

Ключові слова: рак грудної залози, електропровідність, імпеданс, променева терапія.

Автор, відповідальний за листування:

Федір В. Гладких, Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва», м. Харків, Україна; Інститут проблем кріобіології і кріомедицини, м. Харків, Україна; Донецький національний університет імені Василя Стуса, м. Вінниця, Україна
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

How to cite/ Як цитувати статтю: Kulinich HV, Prohorova EB, Hladkykh FV. [Characteristics of skin electrical conductance in patients with breast cancer and high risk of radiation therapy-related complications]. *EUMJ*. 2021;9(4):373-381

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):373-381](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):373-381)

Introduction/Вступ

Променева терапія (ПТ) належить до основних методів лікування онкологічних захворювань, зокрема й хворих на рак грудної залози (РГЗ). Це одна з найбільш наукомістких медичних, галузей яка базується на новітніх досягненнях радіобіології, хімії, радіаційній фізики, техніки та ін. [1].

Ефективна ПТ передбачає використання досить високих доз опромінення, що саме і зумовлює успіх комплексного лікування, зокрема збільшення контингенту пацієнтів, що вижили 5 і більше років. У свою чергу, збільшення терміну виживання після проведеного курсу комбінованого лікування зумовлює збільшення абсолютноного числа хворих із несприятливими наслідками лікування, зокрема променевими ускладненнями (ПУ). ПТ високоенергетичними пучками викликає виразніші променеві реакції та uszkodження шкіри та слизових оболонок, аніж гамма-промені. Методом вибору для лікування ПУ м'яких тканин нині є радикальне хірургічне видалення uszkodжених тканин із подальшим заміщенням дефекту, що виник. В той же час значна увага дослідників направлена саме на попередження та профілактику розвитку ПУ після ПТ, запорукою чого є розробка прогностичних критеріїв ускладнення спеціального лікування у хворих на РГЗ. Одним з таких критеріїв виступає оцінка електропровідності шкірних покривів, які потрапляють в поля опромінення [1, 2, 3].

Добре відомо, що мембрани клітин мають електричні властивості ізолятора, який можна охарактеризувати через діелектричні властивості – відносну діелектричну проникність. Внутрішньоклітинна рідина за хімічним складом та властивостями подібна до міжклітинної рідини, але містить органили клітини та інші внутрішньоклітинні включення, відносний обсяг яких, в загальному випадку, становить незначну частину від загального обсягу клітини. Тому, тканини є гетерогенними об'ємними провідниками другого роду, основними структурними елементами яких є плазматичні мембрани клітин та електроліти цитоплазми і міжклітинні проміжки. Під час зондування електропровідності біологічних тканин змінним струмом виникає зсув фаз напруги і сили електричного струму [4].

За останні кілька десятиліть було створено ряд методів неінвазивної характеристики тканин на основі імпедансу, таких як біоелектричний імпедансний аналіз, електрична імпедансна спектроскопія, електрична імпедансна плетизмографія (IPG), запропоновані імпедансна кардіографія та електроімпедансна томографія. Проведено багато дослідницьких робіт за цими методами для неінвазивної характеристики стану тканин та діагностики захворювань [4].

Змінний струм проходить як через міжклітинні проміжки тканин, так і через мембрани клітин, які створюють реактивну (поляризаційну) складову опору. Тому всі фізіологічні і па-

тологічні процеси, що відбуваються в мембранному комплексі тканин організму впливають і на рівень реактивної складової, і, відповідно, на рівень його повного імпедансу. Найвиразніше реактивна провідність виявляється під час зондування високочастотним змінним струмом [5, 6].

Відомо, що із зростанням частоти тестового електричного сигналу модуль імпедансу (Z) помітно зменшується. Мембрани клітин є свого роду конденсаторами, імпеданс яких падає при збільшенні частоти і все більший внесок у провідність зі зростанням частоти вносить внутрішньоклітинна рідина [6, 7, 8].

Імпеданс (Z) визначається як $Z = R + X$, де R – активний опір; X – реактивний опір. Імпеданс також можна записати у тригонометричній формі: $Z = |Z| (\cos \varphi + i \sin \varphi)$, де $|Z|$ – абсолютне значення імпедансу (модуль); φ – фаза.

Абсолютне значення імпедансу визначається за формулою: $|Z| = \sqrt{R^2 + X^2}$.

Модуль імпедансу досліджуваного об'єкта розраховується на підставі даних про значення струму і напруги. Фазовий детектор визначає різницю фаз між напругою і струмом в досліджуваному об'єкті. Складові імпедансу досліджуваного об'єкта визначаються відповідно до значення фазового кута φ і модуля електричного імпедансу [9, 10, 11].

Як інформативний параметр також використовується фазовий кут значення якого визначається за виразом: $\tan \varphi = X/R$, як співвідношення реактивної та активної складової імпедансу [7, 10, 11].

Відомо, що опір біологічних об'єктів для змінного струму нижчий, ніж для постійного та не залежить від величини струму (якщо вона нижче за фізіологічну норму). Крім того відомо, що опір біологічних об'єктів на одній частоті струму незмінний, якщо не змінюються фізіологічні особливості об'єкту, оскільки опір стрімко падає, якщо помітні фізіологічні зміни, які є початком процесів відмирання тканин [12, 13].

Мета роботи – охарактеризувати зміни електропровідності шкірних покривів у хворих на рак грудної залози з підвищеним ризиком ПУ.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на базі клініки Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва НАМН України» (далі – ДУ «ІМРО НАМН України»). Для дослідження відібрано дані дослідження електропровідності шкірних покривів 16 хворих на РГЗ з підвищеним ризиком ПУ, які перебували на ста-

ціонарному лікуванні у ДУ «ІМРО НАМН України» у 2021 р. Відбір пацієнтів проведено у відповідності до критеріїв включення та критеріїв виключення згідно результатів попередніх досліджень [14].

Середній вік обстежуваних пацієнток, хворих на РГЗ з підвищеним ризиком ПУ становив $53,8 \pm 3,7$ (95 % ДІ: 46,6–61,0) років.

Дослідження електропровідності тканин проводили за допомогою приладу «Електродерматометр», вимірюючи показники: (1) модуль комплексного опору Z , кОм; (2) аргумент комплексного опору φ° ; (3) повний активний електричний опір R , кОм; (4) електрична ємність C , пФ. Показники електричного опору шкірних покривів слугували непрямим відображенням стану мікроциркуляторного забезпечення та трофічного гомеостазу тканин.

Вимірювання проводили за допомогою спеціального датчика (рис. 1), щільно притискаючи його почергово у чотирьох точках грудної клітки, які відповідали точкам аускультатії серця, відповідно: точка 1 – точка аускультатії мітрального клапана, точка 2 – точка аускультатії аортального клапана, точка 3 – точка аускультатії клапана легеневої артерії та точка 4 – точка аускультатії тристулкового клапана.

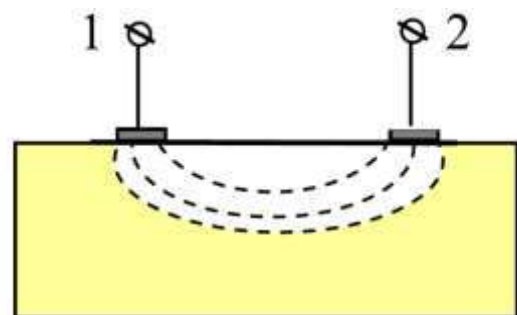


Рисунок 1 – Схема взаємодії двоелектродного сенсора з тканинами

Методи статистичної обробки. Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W – критерію Шапіро-Вілка (Shapiro-Wilk test). Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена (Levene's test). Для оцінки значущості виявлених відмінностей досліджуваних показників при повторюваних вимірюваннях проводили за непараметричним T – критерієм Вілкоксона (Wilcoxon T test). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді « $M \pm m$ », де M – середнє арифметичне зна-

чення, m – стандартна похибка середнього арифметичного, 95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал.

Для графічного представлення даних обрано діаграми розмаху (box-and-whiskers diagram – «шухлядові» діаграми з «вусами»), на яких відображались максимальне та мінімальне значення у разі ненормального розподілу величин або межі 95 % довірчого інтервалу при нормальному розподілі, інтерквартильний розмах (Interquartile range – IQR) у вигляді боксу від 25-го до 75-го перцентилію при ненормальному розподілі величин або межі стандартної похибки середнього арифметичного при нормальному розподілі величин, медіану та/або середнє арифметичне значення [15].

Біоетичні аспекти дослідження. Дослідження проведено у відповідності до основних біоетичних норм Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження» (1964–2013 рр.), Міжнародного керівництва по етиці для біомедичних досліджень Ради міжнародних організацій медичних наук (The Council for International Organizations of Medical Sciences – CIOMS, 2016 р.), Конвенції

Ради Європи про права людини та біомедицину (2007 р.), рекомендацій Комітету з біоетики при Президії НАМН України (2002 р.), Наказам МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р. та відповідним положенням ВООЗ (World Health Organization), Міжнародної ради медичних наукових товариств та Міжнародному кодексу медичної етики (1983 р.). Протоколи дослідження схвалені Комітетом з біоетики та деонтології ДУ «ІМРО НАМН України» (протокол № 15 від 20.10.2020 р.).

Результати та їх обговорення

Проведене дослідження показало, що у хворих на РГЗ з підвищеним ризиком ускладнень ПТ відмічалось зниження показника повного комплексного опору тканин Z в досліджуваних точках відносно вихідних показників (рис. 2). Так модуль комплексного опору в точці аускультативної мітрального клапана серця знизився лише на 6,8 % ($p > 0,05$), в той час як в точках аускультативної аортального, клапана легеневої артерії та тристулкового клапанів зазначений показник статистично вірогідно ($p < 0,05$) знизився за 27,0 %; 26,2 % та 33,0 % відповідно відносно вихідних показників до ПТ.

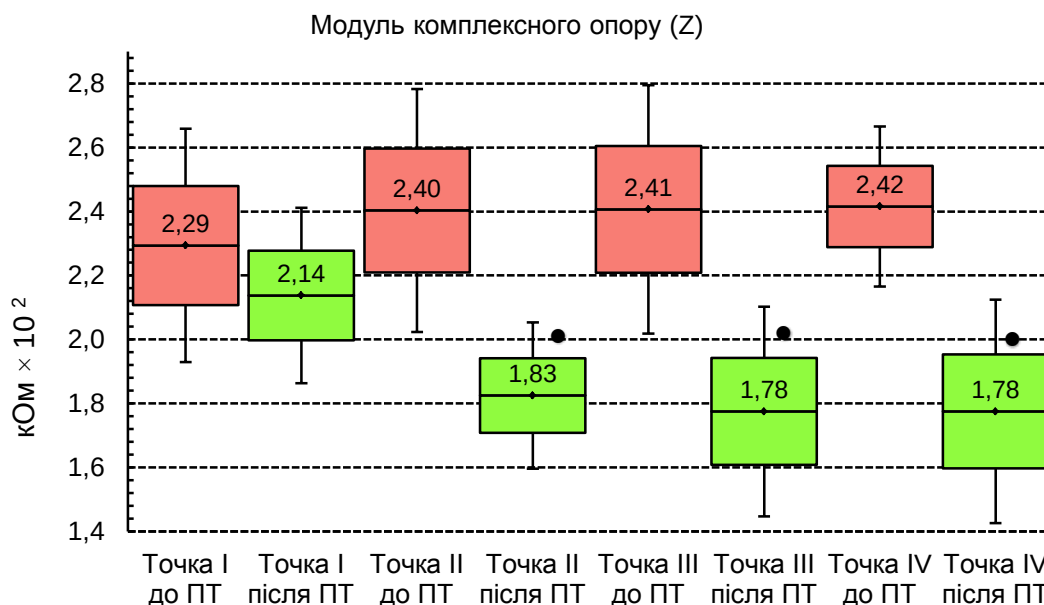


Рисунок 2 – Модуль комплексного опору Z шкірних покривів пацієнток з підвищеним ризиком ускладнень ПТ РГЗ, $n = 16$

Примітка. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення; • – $p < 0,05$ відносно вихідних показників

В той же час встановлено, що зміни активної частини комплексного опору R (рис. 3) не досягали рівня статистичної вірогідності в жодній з досліджуваних точок, що вказує на сталість хі-

мічного складу клітин, оскільки відомо що активний опір залежить тільки від густини та хімічного складу речовини [6, 7].

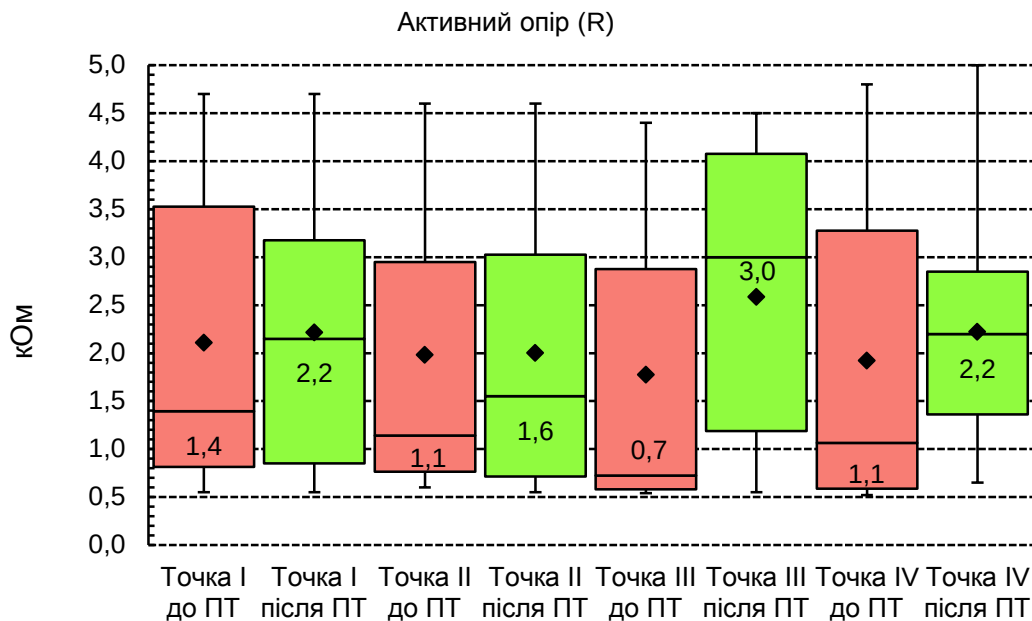


Рисунок 3 – Активний опір шкірних покривів пацієнток з підвищеним ризиком ускладнень ПТ РГЗ, n = 16

Примітка. Розподіл величин ненормальний. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана, ♦ – середнє значення

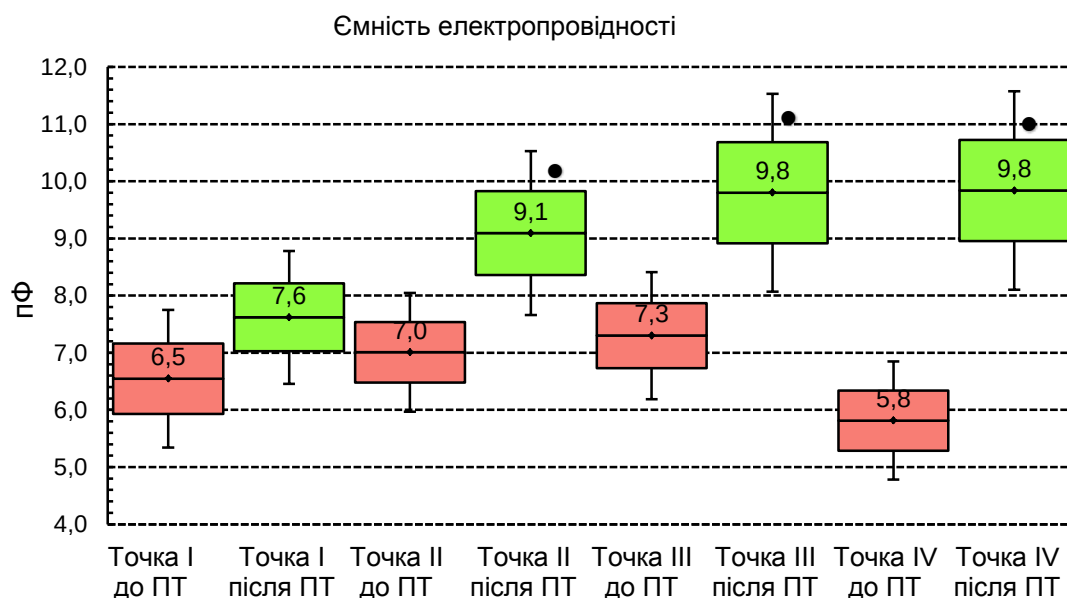


Рисунок 4 – Ємність електропровідності шкірних покривів пацієнток з підвищеним ризиком ускладнень ПТ РГЗ, n = 16

Примітка. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення; ● – $p < 0,05$ відносно вихідних показників

Отримані дані вказують на те, що повний комплексний опір Z зменшувався переважно за рахунок реактивного опору (X), який визначається за формулою: $X=1/(\omega C)$, де ω – частота змінного струму. Тобто, якщо реактивний опір зменшується, ємність збільшується в оберненій пропорції (при незмінній частоті струму).

Встановлено, що найвиразніші зміни з боку ємності електропровідності шкірних покривів у хворих на РГЗ з підвищеним ризиком ускладнень ПТ відмічені в точках проекції тристулкового клапана та клапана легеневої артерії, де вказані показники статистично вірогідно ($p < 0,05$) збільшились відповідно на 41,1 % та 34,2 % відносно вихідних показників до ПТ і становили відповідно $9,8 \pm 0,89$ пФ та $9,8 \pm 0,88$ пФ (рис. 4).

Крім того, проведене дослідження показало, що у хворих на РГЗ з підвищеним ризиком ПУ в динаміці променевої терапії відмічалась тенденція до збільшення фази (аргументу ϕ) комплексного опору, що також підтверджує збільшення ємності (рис. 5).

Встановлене збільшення електричної ємності клітинних мембран після ПТ у хворих на РГЗ доцільно пов'язано зі збільшенням площі мембран після опромінення. Відомо, що ємність конденсатора прямо пропорційна площі мембран (як пластин конденсатора), а площа мембран може збільшуватися за рахунок радіаційних дефектів, що виникають під час опромінення. Тобто поверхня мембран стає більш шорсткою.

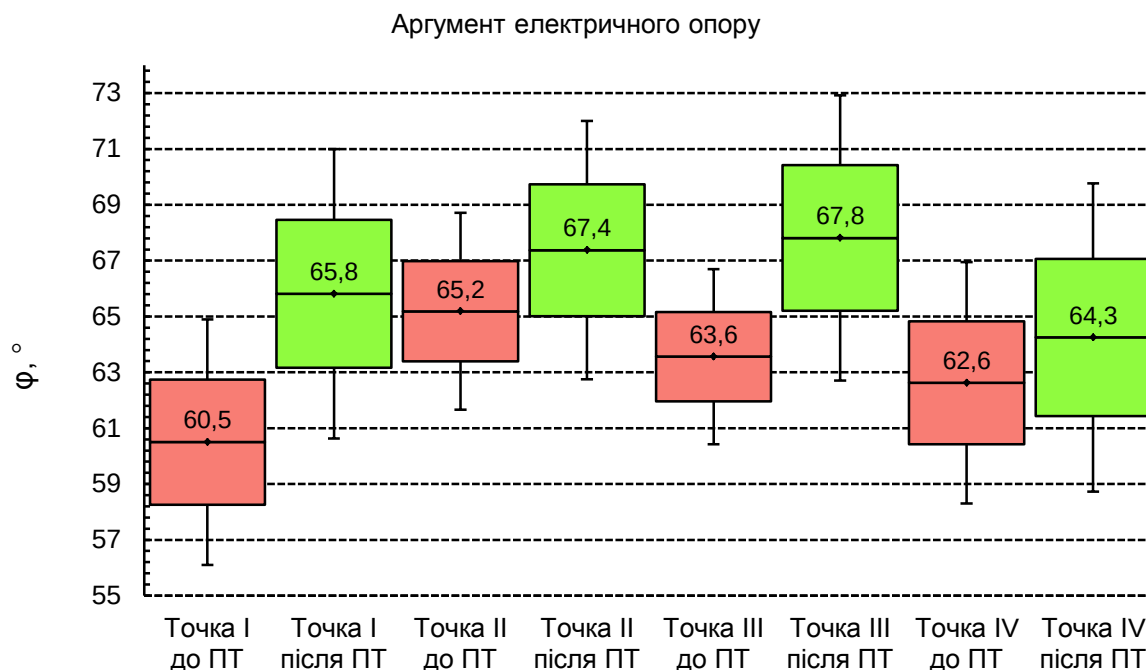


Рисунок 5 – Аргумент електричного опору шкірних покривів пацієнток з підвищеним ризиком ускладнень ПТ РГЗ, $n = 16$

Примітка. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення; • – $p < 0,05$ відносно вихідних показників.

Conclusions/Висновки

1. У хворих на рак грудної залози групи ризику променеви́х ускладнень відмічено статистично вірогідне зниження ($p < 0,05$) значення модуля комплексного електричного опору в середньому на 23,3 % та статистично вірогідне зростання ($p <$

0,05) ємності електропровідності тканини в середньому на 29,8 % відносно вихідних показників в динаміці променевої терапії, що дозволяє розцінювати вказані зміни як можливі прогностичні критерії ускладнення променевої терапії.

2. Зростання електричної ємності електропровідності шкірних покривів у хворих на

грудної залози ймовірно обумовлене збільшенням площі мембран після опромінення, адже ємність конденсатора прямо пропорційна їх

площі, яка ймовірно збільшується за рахунок пошкоджувальної дії іонізуючого опромінення на клітинному рівні.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Встановлені зміни електропровідності шкірних покривів вказують на доцільність оцінки інформативності аналогічних показників у хворих на злоякісні новоутворення інших локалізацій, а

також дослідження залежності прогностичної цінності змін показників біоелектроімпедансу від стадії злоякісного процесу та режиму проведення променевої терапії.

References/Список літератури

1. Bhushan A, Gonsalves A, Menon JU. Current state of breast cancer diagnosis, treatment, and theranostics. *Pharmaceutics*. 2021;13(723):1–24. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050723>
2. Mattingly AE, Ma Z, Smith PD, Kiluk JV, Khakpour N, Hoover SJ, Laronga C, Lee MC. Early postoperative complications after oncoplastic reduction. *Southern Medical Journal*. 2017;110(10):660–666. DOI: <https://doi.org/10.14423/SMJ.0000000000000706>
3. Topuzov EE, Agishev TT, Bozhok AA, Dashyan GA, Sadygova SN, Prikhodko EV, Arshba EA. Clinical and morphological characteristics of skin and subcutaneous fat damage after surgery and radiation therapy in patients with breast cancer (literature review). *Mammology*. 2017; 13 (21): 25–33. DOI: <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2017-13-1-25-33> [in Russian]
4. Bera TK. Bioelectrical impedance methods for noninvasive health monitoring: A Review. *Journal of Medical Engineering*. 2014;2014:1–28. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/381251>
5. Vavilov AYU, Khalikov AA, Kovaleva MS. Mathematical modeling of electrical parameters of biological tissue when assessing its damage by impedance measurement. *Problems of expertise in medicine*. 2006; 6 (22): 34–37. [in Russian]
6. Fedotov AA, Akulov SA. Measuring transducers of biomedical signals of clinical monitoring systems. *Radio and communication*. 2013. 250 p. [in Russian]
7. Nwosu AC, Mayland CR, Mason S, Cox TF, Varro A, Stanley S, Ellershaw J. Bioelectrical impedance vector analysis (BIVA) as a method to compare body composition differences according to cancer stage and type. *Clinical Nutrition ESPEN*. 2019;30:59–66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.02.006>
8. Antonyuk O, Dovgan M., Pohodylo E. Measurement of parameters of imitation of living tissues with known substitution schemes. *Measuring equipment and metrology*. 2014; 75: 69–72. [in Ukrainian]
9. Haverkort EB, Reijven PL, Binnekade JM, de van der Schueren MA, Earthman CP, Gouma DJ, de Haan RJ. Bioelectrical impedance analysis to estimate body composition in surgical and oncological patients: a systematic review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2015;69(1):3–13. DOI: <http://doi.org/10.1038/ejcn.2014.203>
10. Bell KE, Schmidt S, Pfeiffer A, Bos L, Earthman C, Russell C, Mourtzakis M. Bioelectrical impedance analysis overestimates fat-free mass in breast cancer patients undergoing treatment. *Nutrition in Clinical Practice*. 2020;35(6):1029–1040. DOI: <http://doi.org/10.1002/ncp.10438>
11. Yaruta VO. Measurement of electrical parameters of living tissues taking into account the resistive-capacitive impedance created by electrodes. *Information processing systems*. 2011; 4 (94): 231–234. [in Ukrainian]
12. Lukaski HC, Kyle UG, Kondrup J. Assessment of adult malnutrition and prognosis with bioelectrical impedance analysis: phase angle and impedance ratio. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2017;20(5):330–339. DOI: <http://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000387>
13. Herasym M, Pokhodylo Y. Invariant Transducers of Capacitive Sensor Parameters into Voltage. *Eastern European journal of Enterprise Technologies*. 2014; 2 (68): 28–32. DOI: <http://doi.org/10.15587/1729-4061.2014.23174>

14. Hladkykh FV, Kulinich HV, Sevastyanova VS. Characteristics of hematological and biochemical parameters in patients with stage IIB–IIIB breast cancer with late radiation complications. *Practical oncology*. 2020; 3 (1): 4–12. DOI: <http://doi.org/10.22141/2663-3272.3.1.2020.209819> [in Ukrainian]

15. Zar JH. Biostatistical analysis (5 ed.). Prentice-Hall, Englewood. 2014; 960 p.

(received 27.10.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 27.10.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомеди-

чних пристроїв, іншими організаціями, чий продукт, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Acknowledgments/Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України» «Визначення факторів прогнозу та індивідуалізація комплексного лікування пізніх

променевих ускладнень» (номер державної реєстрації: 0118U001712, шифр теми: НАМН.03.19, прикладна, термін виконання: 2019–2021 рр., керівник – директор Інституту, доктор медичних наук, професор Красносельський М. В.).

Information about the authors/Відомості про авторів

Кулініч Галина Василівна – кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник групи променевої патології та паліативної медицини відділу радіології, завідувачка відділення променевої патології та паліативної медицини; завідувачка відділу наукової організації розвитку радіологічної допомоги населенню, Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, 61024, Україна; доцент кафедри радіології та радіаційної медицини, Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, пр. Науки, буд. 4, м. Харків, 61000, Україна;

тел.: +33 (067) 799-08-36,
e-mail: kulinich.galina@gmail.com,
Web of Science: AAQ-2230-2020

Прохорова Ельвіра Борисівна – молодший науковий співробітник групи променевої патології та паліативної медицини відділу радіології, Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, 61024, Україна;

тел.: +33 (095) 737-92-13,
e-mail: elvira.orlovskaya@ukr.net,

Гладких Федір Володимирович – молодший науковий співробітник групи променевої патології та паліативної медицини відділу радіології, Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», вул. Пушкінська, буд. 82, м. Харків, 61024, Україна; аспірант відділу експериментальної кріомедицини, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, вул. Переяславська, буд. 23, м. Харків, 61016, Україна; магістрант кафедри політології та державного управління факультету інформаційних і прикладних технологій Донецького національного університету імені Василя Стуса Міністерства освіти і науки України, вул. 600-річчя, буд. 21, м. Вінниця, 21021, Україна;

тел.: +38 (099) 782-78-72,
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com,
Web of Science: M-5709-2017

Abstract

Tatiana V. Derevianko
ORCID: 0000-0002-5097-8299,
Maiia M. Ananieva
ORCID: 0000-0001-9435-7622,
Mariia O. Faustova
ORCID: 0000-0001-5327-6324,

*Microbiology, Virology and
Immunology Department of Poltava
State Medical University, Poltava,
Ukraine*

**THE EFFECT OF SANGUIRITRINUM ON THE
PATHOGENICITY FACTORS OF METHICILLIN-RESISTANT
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

The relevance of the problem. The frequency of growth of staphylococcal infections in human pathology and the decrease in the effectiveness of their treatment, due to the formation of multidrug resistance, has aroused interest in the study of the anti-staphylococcal activity of Sanguiritrinum and its effect on biological properties, including certain pathogenic factors.

The aim of the research was to study the effect of Sanguiritrinum on the pathogenicity factors of the archival strain and clinical isolate of methicillin-resistant *S. aureus*.

Materials and methods. The objects of the study were the reference strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 from the Museum of Living Cultures of Microorganisms of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Poltava State Medical University, and clinical isolate of *S. aureus* isolated from patients of the surgical department and identified by standard methods. The resistance of this isolate to methicillin was determined using the disk-diffusion method, after which it was concluded that the strain of *Staphylococcus aureus* belongs to MRSA.

In order to assess the antimicrobial activity of the phytopreparation Sanguiritrinum against the studied clinical and archival strains, we used the quantitative method of double serial dilutions in a liquid medium and qualitative disk-diffusion method (Kirby-Bauer) according to standard methods, in compliance with the Order of the Ministry of Public Health of Ukraine No.167 as of 05.04.2007 on the statement of methodical instructions "Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs". Studies of the effect of Sanguiritrinum on the pathogenicity of *S. aureus* were performed by assessing the plasma-coagulating, lecithovitellase and hemolytic activity of microorganisms in the presence of plant extract according to conventional methods.

Conclusions. The obtained data substantiate the prospects of using Sanguiritrinum in the prevention and treatment of purulent and inflammatory diseases of staphylococcal etiology, including infections caused by methicillin-resistant strains of *S. aureus*. The phytopreparation Sanguiritrinum has a strong bacteriostatic effect on the reference strain and on the MRSA clinical isolate of *S. aureus*. Naturally, the clinical isolate of *S. aureus* with methicillin resistance was characterized by lower sensitivity to the action of Sanguiritrinum, as compared to the

sensitivity of the archival strain, because the bactericidal concentration of the drug was 2 times higher. Sanguiritrinum at a concentration of 0.06 µg/ml resulted in complete loss of pathogenicity factors (plasma coagulation, lecithovitellase and hemolytic activity) of the reference strain and the MRSA clinical isolate of *S. aureus*. At a phytopreparation concentration of 0.03 µg/ml, the microorganisms lost only plasma coagulation ability.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, pathogenicity factors, methicillin-resistant strain, Sanguiritrinum, plasma coagulation, lecithovitellase and hemolytic activity.

Corresponding author:

Tatiana V. Derevianko, Microbiology, Virology and Immunology Department of the Poltava State Medical University, Poltava, Ukraine

e-mail: derevyanko602@ukr.net

Резюме

Тетяна В. Дерев'янка

ORCID: 0000-0002-5097-8299,

Майя М. Ананьєва

ORCID: 0000-0001-9435-7622,

Марія О. Фаустова

ORCID: 0000-0001-5327-6324

кафедра мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, Україна

ВПЛИВ САНГВІРІТРИНУ НА ФАКТОРИ ПАТОГЕННОСТІ МЕТИЦИЛІН-РЕЗИСТЕНТНОГО STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Актуальність проблеми. Частота зростання стафілококових інфекцій у патології людини та зменшення ефективності їх лікування, у зв'язку із формуванням мультирезистентності, викликало зацікавленість в дослідженні протистафілокової активності Сангвіритрину та його дію на біологічні властивості, зокрема окремі фактори патогенності (гемолітичну, лецитовітелазну та плазмокоагулюючу активність) *Staphylococcus aureus*.

Мета роботи. Вивчити вплив Сангвіритрину на фактори патогенності музейного штаму і клінічного ізоляту метицилін-резистентного *S. aureus*.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були еталонний штам *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 з музею живих культур мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету та клінічний ізолят *S. aureus*, виділений від хворих хірургічного відділення та ідентифікований за стандартною методикою. Стійкість зазначеного ізоляту до метициліну визначали за допомогою ДДМ, після чого робили висновок про належність штаму стафілокока золотистого до MRSA.

З метою оцінки протимікробної активності фітопрепарату Сангвіритрин щодо досліджуваних клінічних і музейних штамів використовували кількісний метод подвійних серійних розведень у рідкому поживному середовищі та якісний диско-дифузійний метод (Кірбі-Бауера) за стандартною методикою, відповідно до наказу МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». Дослідження впливу Сангвіритрину на фактори патогенності *S. aureus* проводили шляхом оцінки плазмокоагулюючої, лецитовітелазної та гемолітичної активності мікроорганізмів у присутності рослинного екстракту за загальноприйнятими методами.

Висновки. Отримані дані обґрунтовують перспективність використання Сангвіритрину в профілактиці та терапії гнійно-запальних захворювань стафілокової етіології, в тому числі інфекцій, спри-

чинених метицилін-резистентними штамми *S. aureus*. Фітопрепарат Сангвірітрин володіє потужною бактеріостатичною дією щодо еталонного штаму та клінічного ізоляту *S. aureus* MRSA. Закономірно, що клінічний ізолят *S. aureus* із метицилін-резистентністю характеризувався нижчою чутливістю до дії Сангвірітрину, порівняно з чутливістю музейного штаму, оскільки бактерицидна концентрація препарату була вищою у 2 рази. Сангвірітрин в концентрації 0,06 мкг/мл призвів до повної втрати факторів патогенності (плазмокоагулюючої, лецитовітелазної та гемолітичної активності) еталонного штаму та клінічного ізоляту *S. aureus* MRSA. При концентрації фітопрепарату 0,03 мкг/мл мікроорганізми втрачали лише плазмокоагулюючу здатність.

Ключові слова: *Staphylococcus aureus*, фактори патогенності, метицилін-резистентний штам, сангвірітрин, плазмокоагулююча, лецитовітелазна та гемолітична активність.

Автор, відповідальний за листування:

Тетяна В. Дерев'янка, кафедра мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, Україна

e-mail: derevyanko602@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Derevianko TV, Ananieva MM, Faustova MO. The effect of Sanguiritrinum on the pathogenicity factors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *EUMJ*. 2021;9(4):382-390

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):382-390](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):382-390)

Introduction/Вступ

У сучасних умовах, за даними різних джерел, одним із провідних факторів в етіології гнійно-запальних захворювань є *Staphylococcus aureus*. Як вказують дослідники [1, 2], широке поширення стафілококових інфекцій пояснюють високою вірулентністю збудника та збільшенням виникнення метицилін-резистентних штамів *S. aureus* (MRSA), які мають особливий механізм резистентності до β -лактамних антибіотиків – мутації у пеніцилінзв'язуючому білку клітинної стінки ПСБ-2.

Як відомо, *S. aureus* експресує багато факторів патогенності, що й обумовлюють його високий патогенний потенціал. Різномірною дією проявляють агресивні, які є найбільш вивченими. Надзвичайно важливим ферментом патогенності є коагулаза, що призводить до згортання плазми крові, але сам фермент не взаємодіє з фібриногеном, а утворює тромбіноподібну речовину. Фібринова плівка, що утворюється, захищає бактерії від фагоцитозу. Лецитиназа руйнує лецитин клітинних мембран лейкоцитів та інших клітин макроорганізму, що може спричинити лейкопенію. Надзвичайно потужним фактором патогенності *S. aureus* є мембранотоксини (стафілолізини або гемолізени), які обумовлю-

ють гемолітичну активність мікроорганізмів на кров'яному агарі [3].

Необґрунтоване та нераціональне використання антибіотиків призводить до формування резистентності мікроорганізмів [4], сприяє розвитку дисбіозу, алергічних реакцій, хронічних захворювань та пригнічення імунної резистентності організму людини. Постійний пошук і дослідження альтернативних протимікробних лікарських препаратів є актуальним питанням. На сьогодні доведено, що переваги над антимікробними препаратами мають лікарські засоби рослинного походження [5], які володіють високими бактерицидними властивостями, і до яких повільніше розвивається резистентність мікроорганізмів.

За літературними даними, з'ясовано, що до таких препаратів належить рослинний засіб Сангвірітрин, отриманий із рослинної сировини видів родини Макові (маклеї дрібноплідної та серцеподібної). До його складу входить суміш бісульфатів алкалоїдів (сангвінарин і хелеритрин). Препарат належить до фармакотерапевтичної групи антисептичних і дезінфікуючих засобів (код АТС D08A X). Нами доведено, що фітопрепарат володіє широким спектром протимікробної активності, як до моно- так і полірезистентних мікроорганізмів [6, 7]. Характерною

його особливістю є відсутність розвитку лікарської резистентності мікроорганізмів навіть при тривалому його застосуванні. Сангвірітрин належить до помірно токсичних препаратів і не володіє кумулятивними, мутагенними, канцерогенними властивостями. Клінічними дослідженнями доведено високий терапевтичний і профілактичний ефект Сангвірітрину, а також відсутність загально токсичної і місцево подразнюючої дії [8, 9]. Значна кількість дослідників приділяла увагу ефективності використання фітопрепарату в стоматології, зокрема в поєднанні його з пробіотиками та іншими препаратами [10].

Вищенаведені переваги досліджуваного фітопрепарату підвищують його практичну цінність. Частота зростання стафілококових інфекцій у патології людини та зменшення ефективності їх лікування, у зв'язку із формуванням мультирезистентності, викликало зацікавленість в дослідженні протистафілокової активності Сангвірітрину та його дію на біологічні властивості, зокрема окремі фактори патогенності (гемолітичну, лецитовітелазну та плазмокоагулюючу активність) *Staphylococcus aureus*.

Мета дослідження – вивчити вплив Сангвірітрину на фактори патогенності музейного штаму та клінічного ізоляту метицилін-резистентного *S. aureus*.

Матеріали і методи. Наукові дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи «Вивчення ролі умовно-патогенних та патогенних інфекційних агентів з різною чутливістю до антимікробних і противірусних препаратів у патології людини» (№ державної реєстрації 0118u004456) кафедри мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету.

В дослідженні використали фітопрепарат Сангвірітрин (ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика» с. Станишівка Житомирської обл., Україна), який представлений спиртовим розчином для зовнішнього застосування. Прозора рідина оранжевого кольору із запахом спирту. В 1 мл розчину містить 2 мг діючої речовини сангвірітрин, допоміжні речовини – етанол 96 %, вода очищена.

Об'єктами дослідження були еталонний штам *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 з музею живих культур мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету та клінічний ізолят *S. aureus*, виділений від хворих

хірургічного відділення та ідентифікований за стандартною методикою. Стійкість зазначеного ізоляту до метициліну визначали за допомогою ДДМ, після чого робили висновок про належність штаму стафілокока золотистого до MRSA.

З метою оцінки протимікробної активності фітопрепарату Сангвірітрин щодо досліджуваних клінічних і музейних штамів використовували кількісний метод подвійних серійних розведень у рідкому поживному середовищі та якісний диско-дифузійний метод (Кірбі-Бауера) за стандартною методикою, відповідно до наказу МОЗ України №167 від 05.04.2007 р. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [11]. Визначали мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) рослинного забору за найменшою його концентрацією, яка пригнічувала видимий ріст культури *S. aureus*, наявність якого оцінювали шляхом огляду пробірки у прохідному світлі, порівнюючи з «негативним» контролем. Для встановлення мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) здійснювали посів вмісту пробірок із відсутністю росту бактерій на чашки Петрі з м'ясопептонним агаром. Посіви інкубували в звичайній атмосфері при температурі 35–36 °С протягом 24–48 год та оцінювали видимий ріст мікроорганізмів.

Дослідження впливу Сангвірітрину на фактори патогенності *S. aureus* проводили шляхом оцінки плазмокоагулюючої, лецитовітелазної та гемолітичної активності мікроорганізмів у присутності рослинного екстракту за загальноприйнятими методиками [12]. Вплив Сангвірітрину на гемолітичну активність *S. aureus* вивчали на кров'яному агарі, оцінюючи утворення навколо колоній прозорих зон гемолізу. Лецитовітелазну реакцію проводили шляхом посіву *S. aureus* на чашки Петрі з жовтково-сольовим агаром. Після інкубації в термостаті при 37°C через 24-48 год оцінювали утворення або відсутність зони помутніння і характерного райдужного вінчика навколо периферії колоній. Здатність *S. aureus* до продукції плазмокоагулази під дією досліджуваного лікарського засобу виявляли після посіву мікроорганізмів у пробірки з цитратною плазмою кролика. Перед постановкою досліду суху плазму крові розчинили у стерильному ізотонічному розчині натрію хлориду з розрахунку 1 мл на ампулу і зробити розведення 1:5 (1 мл плазми + 4 мл фізіологічного розчину). У стерильну пробірку з 0,5 мл розведеної плазми

кролика вносили бактеріологічною петлею досліджувані штами стафілококів. Пробірки інкубували при $+37^{\circ}\text{C}$, оцінювали прояви реакції (час прояву коагуляції – згортання плазми) через 2–3 год і 24 год. Реакцію вважали позитивною, коли утворюється згусток (чи желеподібна маса), яка не порушувалася при легкому струшуванні. Дослідження проводили не менше 5 разів.

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних пакетів програм «STATISTICA+» та «Microsoft Excel 2016». Наявність відмінностей між досліджуваними показниками оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали достовірними при значеннях $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами диско-дифузійного методу Кірбі–Бауера відмічено різну чутливість мікроорганізмів до Сангвірітрину. Еталонний штам *S. aureus* показав вищу чутливість (діаметр зон

затримки росту становив $18 \pm 0,2$ мм), порівнюючи із клінічним ізолятом *S. aureus*, для якого зона затримки росту дорівнювала $15 \pm 0,9$ мм.

Протистафілококову активність фітопрепарату підтверджено методом серійних розведень (рис. 1). Сангвірітрин показав однакову бактеріостатичну дію щодо еталонного штаму та клінічного ізоляту *S. aureus*. При проведенні оцінки результатів МІК Сангвірітрину не спостерігали видимого росту культури бактерій, як музейного штаму так і метицилін-резистентного *S. aureus*, у пробірках із розведенням препарату від 1 мкг/мл до 0,015 мкг/мл, порівнюючи з «негативним» контролем. Відмічено, що ріст еталонного штаму *S. aureus* як і *S. aureus* MRSA у восьмій пробірці із розведенням речовини 0,007 мкг/мл була не виражена мутність, що вказувало на ослаблений ріст. Як видно, з даних рисунка 1, МІК препарату для досліджуваних штамів мікроорганізмів становила $0,015 \pm 0,2$ мкг/мл.

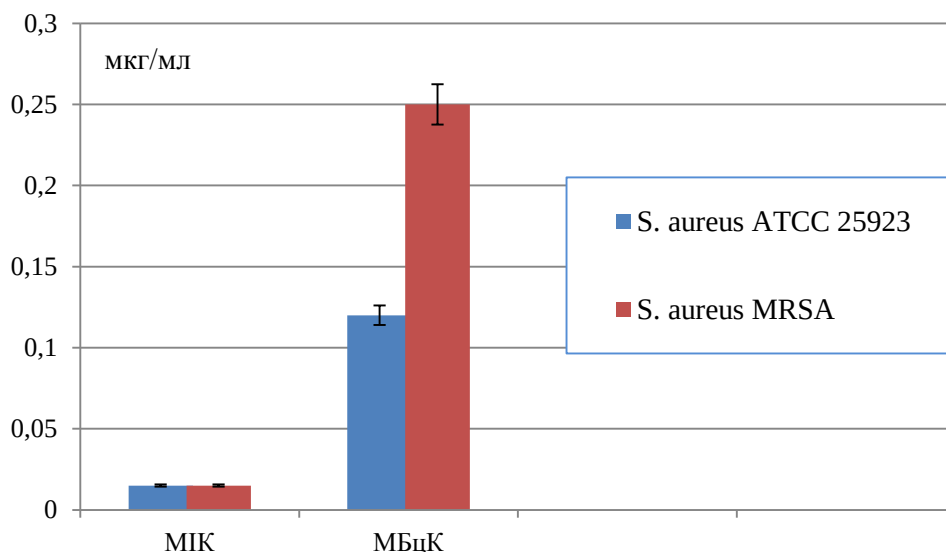


Рисунок 1 – Чутливість штамів *S. aureus* до Сангвірітрину (МІК та МБЦК)

Після пересіву на чашки Петрі з м'ясопептонним агаром вмісту пробірок, у яких відмічено статичну дію Сангвірітрину, і подальший їх інкубації в стандартних умовах оцінювали бактеріцидну дію фітопрепарату. Облік результатів дозволив встановити МБЦК препарату щодо еталонного штаму *S. aureus* – $0,12 \pm 0,1$ мкг/мл і клінічного ізоляту *S. aureus* MRSA – $0,25 \pm 0,3$ мкг/мл. Таким чином, бактерицидний ефект щодо еталонного штаму *S. aureus* перевищував даний показник щодо метицилін-резистентного *S. aureus* у 2 рази, що є цілком закономірним.

Для оцінки впливу Сангвірітрину на фактори патогенності мікроорганізмів нашу увагу привернула статична концентрація препарату в 0,06 та 0,03 мкг/мл.

З метою визначення плазмокоагулюючої активності *S. aureus* у 0,9 % розчині натрію хлориду із добових культур мікроорганізмів готували вихідні бактеріальні суспензії 0,5 Од за стандартом мутності МакФарланда. Потім їх вносили у пробірки з концентрацією Сангвірітрину 0,06 мкг/мл та 0,03 мкг/мл та інкубували при $+37^{\circ}\text{C}$ протягом 1 год. Після того, оцінювали пробірки з 0,5 мл розведеної плазми кролика, в

які вносили досліджувані штами стафілококів, взяті з вмісту пробірок із концентрацією препарату 0,06 мкг/мл та 0,03 мкг/мл (рис. 2, 3).

За результатами досліджень, було виявлено відсутність згортання плазми, тобто желеподібний згусток не утворився, в порівнянні з контро-

лем культур (рис. 2, 3; табл. 1). Максимальне пригнічення плазмокоагулюючої активності спостерігали в концентрації Сангвірітрину 0,06 та 0,03 мкг/мл як для еталонного штаму так і клінічного ізоляту *S. aureus*.

Таблиця 1 – Вплив Сангвірітрину на фактори патогенності *S. aureus*

Концентрація (мкг/мл)	0,06	0,03	0,015	КК	КС
Культури					
Плазмокоагулююча активність					
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	–	–	+	+	–
<i>S. aureus</i> MRSA	–	–	+	+	–
Гемолітична активність					
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	–	–+	+	+	–
<i>S. aureus</i> MRSA	–	+	+	+	–
Лецитовітелазна активність					
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	–	–+	+	+	–
<i>S. aureus</i> MRSA	–	+	+	+	–

Примітка: «–» – відсутність факторів патогенності; «+» – наявність факторів патогенності; «–+» – фактори патогенності слабо виражені; КК – контроль культури; КС – контроль середовища

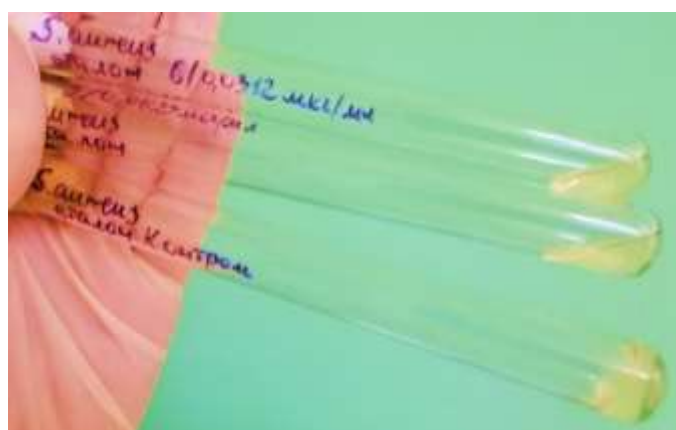


Рисунок 2 – Плазмокоагулююча активність еталонного штаму *S. aureus* під дією Сангвірітрину

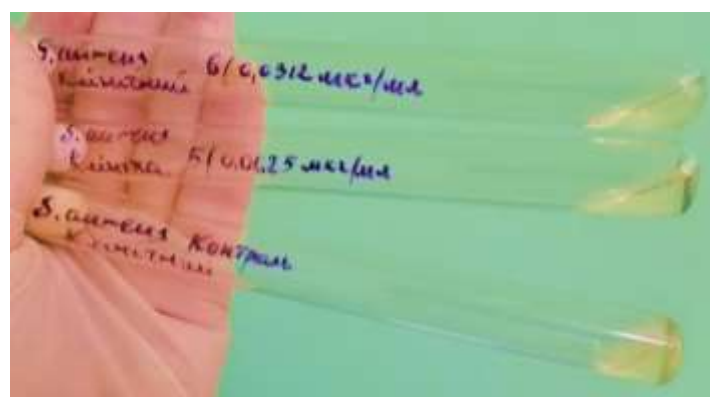


Рисунок 3 – Плазмокоагулююча активність клінічного ізоляту *S. aureus* під дією Сангвірітрину

У той же час, після пересіву мікроорганізмів на чашки Петрі з кров'яним агаром оцінювали гемолітичну активність *S. aureus* кожного сектора, який відповідав розведенням Сангвірітрину в статичній концентрації від 0,06 мкг/мл до 0,015 мкг/мл у вищеописаному методі серійних розведень (рис. 4). Максимальне пригнічення гемолітичної активності *S. aureus* MRSA відмічено в секторі з концентрацією препарату 0,06 мкг/мл. Еталонний

штам *S. aureus* також не проявив гемолітичної активності з розведенням Сангвірітрину в концентрації 0,06 мкг/мл. У секторі з концентрацією фітопрепарату 0,03 мкг/мл клінічний ізолят у порівнянні з еталонним штамом не втратив свою гемолітичну активність, оскільки було відмічено утворення зон гемолізу (табл. 1). У секторах із контролем культур спостерігали гемолітичну активність золотистого стафілокока.

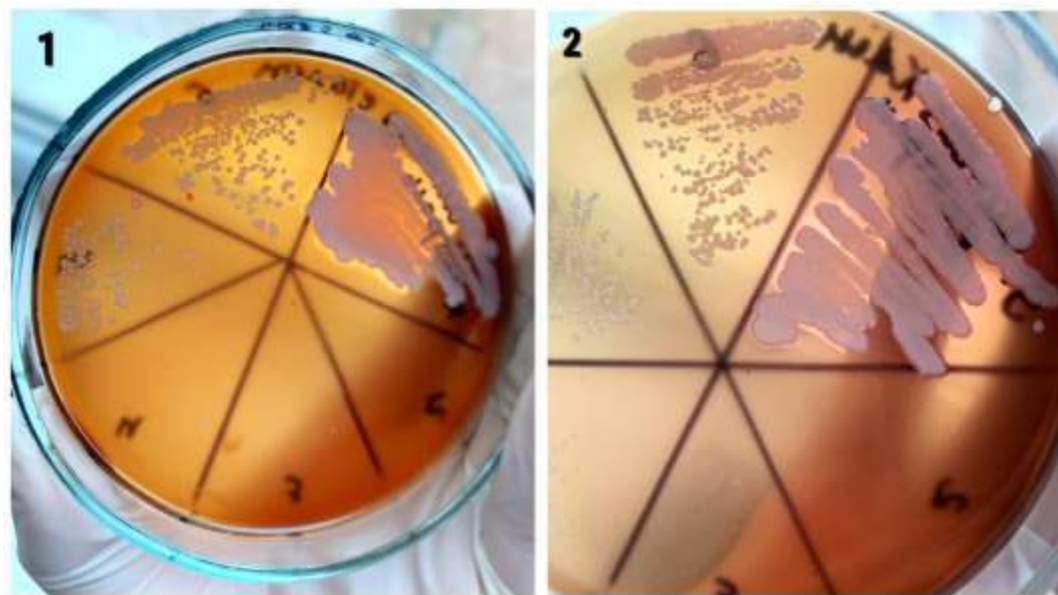


Рисунок 4 – Гемолітична активність *S. aureus* під дією Сангвірітрину: 1 – еталонний штам; 2 – клінічний ізолят

Як видно з таблиці 1, максимальне пригнічення лецитовітелазної активності золотистих стафілококів спостерігали в секторі з концентрацією препарату 0,06 мкг/мл. У секторі з концентрацією 0,03 мкг/мл було відмічено часткове пригнічення даного фактору патогенності еталонного штаму, оскільки слабо виражений райдужний вінчик навколо периферії колоній. Клінічний ізолят *S. aureus* у цій

концентрації препарату володів лецитовітелазною активністю.

Отримані дані обґрунтовують перспективність використання Сангвірітрину в профілактиці та терапії гнійно-запальних захворювань стафілококової етіології, в тому числі інфекцій, спричинених метицилін-резистентними штамми *S. aureus*.

Conclusions/Висновки

Фітопрепарат Сангвірітрин володіє потужною бактеріостатичною дією щодо еталонного штаму та клінічного ізоляту *S. aureus* MRSA. Закономірно, що клінічний ізолят *S. aureus* із метицилін-резистентністю характеризувався нижчою чутливістю до дії Сангвірітрину, порівняно з чутливістю музейного штаму, оскільки бактерицидна концентрація препарату була вищою у 2 рази.

Сангвірітрин в концентрації 0,06 мкг/мл призводить до повної втрати факторів патогенності (плазмокоагулюючої, лецитовітелазної та гемолітичної активності) еталонного штаму та клінічного ізоляту *S. aureus* MRSA. При концентрації фітопрепарату 0,03 мкг/мл мікроорганізми втрачають лише плазмокоагулюючу здатність.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу рослинного препарату Сангвіритрин на фактори патогенності клінічних ізолятів *S. aureus*, отриманих із різних біотопів людини.

References/Список літератури

1. Krsiy NI, Pokryshko OV, Klymnyuk SI. [Antibiotic sensitivity of opportunistic pathogens isolated in the intensive care unit of Ternopil University Hospital]. *Farmatsevtichna mikrobiologiya i klinichna laboratorna diahnostyka: materialy naukovo-praktychnoi konferencii* [Pharmaceutical microbiology and clinical laboratory diagnostics]. Kharkiv, 2014, pp. 14–15. (In Ukrainian).
2. Kotsar OV, Holubka OV, Masalova AV, Antusheva TO, Ryabushyts OV. [The prevalence of meticillin-resistant *Staphylococcus* among the bacillicarriers]. *Eksperymental'na i klinichna medytsyna*. 2016;4(73):23–26.
3. Oleshko HM, Lyubchenko HA. [Biochemical components and immunobiological activity of factors of staphylococci pathogenicity]. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2006;78(1):20–28.
4. Romanyuk LB, Kravets' NYA, Klymnyuk SI, Kopcha VS, Dronova OY. [Antibiotic-resistance of opportunistic microorganisms: topicality, conditions of emergency, ways of overcome]. *Infectious diseases*. 2019;4(98):63–71. doi: 10.11603/1681-2727.2019.4.10965
5. Dereviyanko TV. [Antimicrobial properties of biogenic volatile organic compounds from tree plants]. *Biology and ecology*. 2019;5(1):157–165. doi: 10.33989/2414-9810.2019.5.1.195128
6. Dereviyanko TV, Ananyeva MM, Faustova MO, Loban' HA. [Influence of isochinoline alkaloid extract of poppy plants on biological properties of museum strains of microorganisms]. *Bulletin of problems in biology and medicine*. 2021;1(159):181–184. doi: 10.29254/2077-4214-2021-1-159-181-184
7. Dereviyanko TV, Ananyeva MM, Faustova MO, Loban' HA. [Comparative characteristics of antimicrobial action of herbal medicines]. *Bulletin of problems in biology and medicine*. 2020;1(155):274–277. doi: 10.29254/2077-4214-2020-1-155-274-277
8. Vichkanova SA, Krutikova NM. [Effectiveness of sanguirithrin in the treatment of infectious and inflammatory diseases of the ORL organs.]. *Polyclinics*. 2012;3:104–108. Retrieved from: <http://www.poliklin.ru/imagearticle/201203/104-108.pdf> (In Russian)
9. Vichkanova SA. [Data from the clinical study of the antimicrobial herbal preparation Sangviritrin]. *Polyclinics*. 2012;1:82–86. Retrieved from: [http://www.poliklin.ru/imagearticle/201201\(1\)/81-86.pdf](http://www.poliklin.ru/imagearticle/201201(1)/81-86.pdf) (In Russian)
10. Kryvtsova MV, Kostenko YEYA. [Correction of oral cavity microbiota during inflammatory periodontal diseases]. *Bulletin of problems in biology and medicine*. 2020;3(157):331–336. doi: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-331-336
11. Nakaz MOZ Ukrainy No 167 05.04.2007. *Pro zatverdzhennia metodychnykh vkazivok «Vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ»* [About the statement of methodical instructions «Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs»]. Retrieved from: <http://www.moz.gov.ua>.
12. Prikaz Minzdrava SSSR No 535 22.04.1985. *Ob unifikatsii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya, primenyayemykh v kliniko-dagnosticheskikh laboratoriyakh lechenno-profilakticheskikh uchrezhdeniy* [On the unification of microbiological (bacteriological) research methods, used in clinical diagnostic laboratories medical and preventive institutions]. Retrieved from: http://www.libussr.ru/doc_ussr/usr_12667.htm

(received 31.10.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 31.10.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Information about the authors/Відомості про авторів

Дерев'янка Тетяна Василівна – кандидат біологічних наук, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету,

e-mail: derevyanko602@ukr.net, телефон: 066-106-37-52

Ананьєва Майя Миколаївна – кандидат медичних наук, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету,

e-mail: anfila@ukr.net, телефон: 066-174-82-00

Фаустова Марія Олексіївна – кандидат медичних наук, доцент, кафедра мікробіології, вірусології та імунології Полтавського державного медичного університету,

e-mail: mashafaustova@ukr.net, телефон: 066-619-28-20

Abstract

Mariana V. Maksymyak

<https://orcid.org/0000-0002-4059-948X>

Lesia M. Soltysik

<https://orcid.org/0000-0003-1357-0208>

Anna I. Ovchar

<https://orcid.org/0000-0001-9529-55-23>

Valeriy A. Levchenko

<https://orcid.org/0000-0002-6896-9710>

*Department of Disaster Medicine
and Military Medicine, Ivano-
Frankivsk National Medical
University, Ivano-Frankivsk,
Ukraine*

**PSYCHO-VEGETATIVE "CHAOS" AS AN IMBALANCE OF
HOMEOSTATIC SYSTEMS IN STUDENTS: METHODS OF ITS
EARLY DIAGNOSIS**

**“Panic is half of illness.
Calm is half of health...”
Avicenna**

The aim of the work was to study the psycho-vegetative state of students using standardized questionnaires.

Materials and methods of research. The study involved students of 18–20 y/o, I–II course of the medical university. According to the results of screening of 448 students, we used a standardized questionnaire by OM Vein. There were 82 people with signs of autonomic dysfunction, which comprised the main study group. To assess the state of autonomic balance, we used cardiointervalography; to verify the hyperventilation syndrome, we used the Nijmegen questionnaire; to assess the psycho-emotional state and anxiety, we used the State-Trait Anxiety Inventory.

Results of the research. Among 82 students with signs of autonomic dysfunction, the average score by the Vein scale was 36.12 ± 4.26 points ($p < 0.001$) vs. 15 points denoting the norm. Subjective symptoms identified by the Vein scale closely correlated with the results of the Nijmegen questionnaire. A positive indicator of the latter – 36.24 ± 1.26 points – was observed in 71.95 % of people, which indicated the presence of hyperventilation syndrome in this group of students. The rest of the students in the main group had a negative result (less than 23 points), although according to the Vein scale, they had signs of autonomic dysfunction, which could indicate a certain premorbid condition. According to the State-Trait Anxiety Inventory, among the 82 people surveyed, students with signs of personal anxiety scored the most points, which were accompanied by emotional "explosions" (56.1 %), neurotic conflicts (35.37 %), feelings of insecurity (46.34 %) and anxiety (37.8 %), etc. We found an association between signs of anxiety and hyperventilation syndrome ($r = 0.76$). According to the results of the assessment, against the background of anxiety and neurotic symptoms and manifestations of hyperventilation syndrome, the results of the survey revealed signs of somatoform autonomic dysfunction in a significant proportion of students (71.95 %) of the main group, including complaints of respiratory, circulatory and gastrointestinal nature. The lack of isolated psychological markers specific to each psychosomatic disorder should also be noted. Thus, the identified signs of autonomic imbalance by the Vein questionnaire were significantly correlated with

the manifestations of hyperventilation syndrome, increased anxiety, somatoform abnormalities, which is the evidence of statistical significance and informativeness of the results of the surveys.

Conclusions. Screening surveys among students using standardized questionnaires, analysis of heart rate variability allows identifying a risk group with manifestations of psycho-vegetative dysfunction, maladaptation syndrome and recommending the use of certain health measures to improve quality of life, professional activity.

Keywords: students, autonomic balance, hyperventilation syndrome, anxiety.

Corresponding author:

Mariana V. Maksymyak, Department of Disaster Medicine and Military Medicine, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

e-mail: marianamak@ukr.net

Резюме

Мар'яна В. Максим'як

<https://orcid.org/0000-0002-4059-948X>

Леся М. Солтисік

<https://orcid.org/0000-0003-1357-0208>

Анна І. Овчар

<https://orcid.org/0000-0001-9529-55-23>

Валерій А. Левченко

<https://orcid.org/0000-0002-6896-9710>

Кафедра медицини катастроф та військової медицини, Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна

ПСИХО-ВЕГЕТАТИВНИЙ «ХАОС», ЯК ДИСБАЛАНС ГОМЕОСТАТИЧНИХ СИСТЕМ У СТУДЕНТІВ МОЛОДШИХ КУРСІВ: СПОСОБИ ЙОГО РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ

**«Паніка – це половина хвороби.
Спокій – це половина здоров'я...»**

Авіцена

Метою роботи було вивчення психо-вегетативного стану у студентів молодших курсів за допомогою стандартизованих опитувальників.

Матеріали і методи дослідження. В дослідженні приймали участь студенти 18–20 років, I–II курсу університету. За результатами скринінгового обстеження 448 студентів, з використанням стандартизованого опитувальника О.М. Вейна, було виявлено 82 особи з ознаками вегетативної дисфункції, з яких було сформовано основну групу. Для оцінки стану вегетативного балансу ми використовували кардіоінтервалографію, для верифікації гіпервентиляційного синдрому (ГВС) застосовували Наймігенський опитувальник, для оцінки психоемоційного стану, тривожності використовували шкалу Спілбергера–Ханіна.

Результати дослідження. Серед 82 студентів з ознаками вегетативної дисфункції середній результат за шкалою Вейна становив $36,12 \pm 4,26$ бали, ($p < 0,001$), проти 15 балів – норми. Суб'єктивна симптоматика виявлена за шкалою Вейна тісно перепліталась з результатами Наймігенського опитувальника. Позитивний показник останнього – $36,24 \pm 1,26$ бали відмічався у 71,95 % осіб, що свідчило про наявність ГВС у цієї групи студентів. У решти студентів основної групи визначався від'ємний результат (менше 23 балів), хоча за даними шкали Вейна у них були ознаки вегетативної дисфункції, що може свідчити про певний преморбідний стан. За даними шкали Спілбергера–Ханіна, серед опитаних 82 осіб найбільше балів набрали студенти із ознаками особистісної тривоги, яка супроводжувалась емоційними «вибухами» (56,1 %), невротичними конфліктами (35,37 %), відчуттям невпевненості (46,34 %) і переживань (37,8 %) тощо. Нами встановлено взаємозв'язок ознак тривоги і гіпервентиляційного синдрому – ($r = 0,76$). За результатами опитування, на тлі тривожно-невротичної симптоматики та проявів

ГВС у значної частини студентів (71,95 %) основної групи за результатами опитування були виявлені ознаки соматоформної вегетативної дисфункції, зокрема скарги з боку органів дихання, кровообігу і шлунково-кишкового тракту. Слід відмітити відсутність ізольованих психологічних маркерів специфічних для кожного психосоматичного розладу. Таким чином, виявлені ознаки вегетативного дисбалансу за опитувальником Вейна, достовірно переплітались із проявами ГВС, підвищеною тривожністю, соматоформними відхиленнями, що є свідченням достовірності та інформативності результатів проведених опитувань.

Висновки. Проведення скринінгових обстежень серед студентів із використанням стандартизованих опитувальників, аналізу варіабельності серцевого ритму дозволяє виявити серед них групу ризику з проявами психовегетативної дисфункції, дезадапційного синдрому і рекомендувати застосування певних оздоровчих заходів для покращення якості життя, професійної діяльності.

Ключові слова: студенти, вегетативний баланс, гіпервентильційний синдром, тривожність.

Автор, відповідальний за листування:

Мар'яна В. Максим'як, кафедра медицини катастроф та військової медицини, Івано-Франківський національний медичний університет, м. Івано-Франківськ, Україна
e-mail: marianamak@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Maksymyak MV, Soltysik LM, Ovchar AI, Levchenko VA. [Psycho-vegetative "chaos" as an imbalance of homeostatic systems in students: methods of its early diagnosis]. *EUMJ*. 2021;9(4):391-400

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):391-400](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):391-400)

Introduction/Вступ

Інтенсифікація навчального процесу у вищих навчальних закладах, зростання потоку всебічної інформації, зміна стереотипу життя у студентів особливо молодших курсів, потребують більшого психоемоційного напруження, витрат енергії в процесі пристосування регуляційних гомеостатичних механізмів організму в цей період.

Особливості навчання, обмежений відпочинок, зменшення фізичної активності, не урегульоване харчування, умови проживання тощо сприяють перенапруженню і часом зриву адаптаційних механізмів, що особливо помітно серед молодих людей з ознаками вегетативної дисфункції (ВД) [1,2].

Аналіз стану здоров'я серед студентів навчальних закладів України виявив у значної частини з них прояви психологічної та фізичної дезадаптації, функціональні відхилення з боку соматичного здоров'я. За даними досліджень різних авторів поширеність розладів адаптації серед молоді становить від 14,5 до 21 % при цьому до 60 % студентів першого року навчання мають явні ознаки психосоціальної дезадаптації і висо-

кий рівень тривожності, що погіршує якість життя молодих людей, процес навчання і що в майбутньому може віддзеркалюватись на їх професійній діяльності [3].

Нині вважають, що психологічний та функціональний портрет студентського здоров'я є найважливішим показником оптимальності навчального середовища, що обумовлює потребу систематичного контролю самопочуття молодих людей для своєчасного виявлення та корекції розладів адаптації та інших супутніх соматичних порушень. Процес адаптації присутній на всіх етапах формування психосоматичних розладів, він є їх динамічною основою. Відомо, що у формуванні пристосувальних механізмів людини велика роль належить вегетативній нервовій системі, ЦНС, гуморальним чинникам [1]. Саме вони забезпечують гомеостаз організму і варіабельність його основних фізіологічних процесів до впливу детермінованих та хаотичних подразників довкілля, в т.ч. до подразників навчального стресу.

Саме при виснаженні адаптаційних резервів настає фаза зриву механізмів адаптації. Хро-

нічна психічна напруженість, явища «застійного збудження» різносторонньо порушують функціональний стан лімбіко-ретикулярного комплексу, що і визначає різнобічний характер вегетативно-соматичних дисфункцій, їх клінічних проявів, які суттєво впливають на якість життя та навчання молоді [4].

Нині відомо, що надсегментарні вегетативні розлади і психоемоційні реакції тісно пов'язані між собою із певною соматичною симптоматикою – гемодинамічною, респіраторною, абдомінальною, в той же час сегментарні – чітко прив'язані до певної органічної вісцеральної патології. Цим пояснюється увага, яку нині приділяють при вивченні проблем хронічного стресу і вегетативної регуляції – однієї із сторін психо-вегетативного співвідношення, що є основою патогенезу і клінічної симптоматики надсегментарних вегетативних розладів [1].

Мета дослідження. Оцінка стану психо-вегетативного гомеостазу у студентів молодших курсів як маркера проявів дезадаптації.

Матеріали і методи дослідження

За результатами скринінгового обстеження 448 студентів I–II курсів ІФНМУ, за даними опитувальника Вейна [5] була відібрана група студентів з ознаками вегетативної дисфункції, які склали основну групу ($n = 82$). Серед опитаних було 52 дівчини і 30 хлопців, віком 18–20 років. Контрольну групу склали 16 студентів однокурсників ($n = 16$).

Обстеження проводилось на кафедрі МК та ВМ, в т.ч. в онлайн режимі із використанням платформи Microsoft TEAMS.

Включені до основної групи студенти за результатами анкетування згідно опитувальника О.М. Вейна набрали більше 15 балів, що свідчило про наявність вегетативних дисфункцій.

Також було встановлено, що 68,3 % студентів основної групи раніше не систематично амбулаторно лікувались і перебували на обліку в поліклінічних установах протягом 2–3 років із скаргами на періодичний головний біль, прояви швидкого втомлення, нестійкі та короткочасні скарги з боку серця, шлунково-кишкового тракту, респіраторної системи без наявних морфологічних змін.

Для верифікації однієї із ознак надсегментарних розладів – гіпервентиляційного синдрому серед студентів основної і контрольної груп застосовували Стандартизований Наймігенський опитувальник («Nijmegen questionnaire»), який був розроблений відділом пульмонології уні-

верситету м. Найміген (Нідерланди, 2004) для виявлення фізіологічних показників дизрегуляції легеневої вентиляції, співставних із ГВС [6].

Опитувальник містить 16 пунктів, результати оцінювали за 5-бальною шкалою (0 – ніколи, 4 – дуже часто). Зокрема, симптоми виникали зрідка – менше 1 разу на місяць, іноді – частіше 1 разу на місяць, часто – 1 раз на тиждень або частіше, дуже часто – 1 раз в день або частіше. Мінімально та максимально можливими були бали «0» і «64». Даний опитувальник широко застосовують в медичній практиці для скринінг-діагностики гіпервентиляційного синдрому (ГВС), так як в 90 % випадків він дозволяє коректно виявляти його симптоми [6].

Оцінка результатів тесту: при сумі балів ≤ 22 оцінювалася як малоймовірна, при сумі балів ≥ 23 ймовірність ГВС розцінювалася як висока [7]. Наявність ГВС є частою супутньою ознакою дезадаптаційного синдрому.

Для оцінки психоемоційного стану, тривожності у студентів обох груп використовували шкалу Спілбергера–Ханіна (STAI) – вивчали стан особистісної та ситуаційної (реактивної) тривожності. Шкала самооцінки складається із 2-х частин, які оцінювались роздільно – реактивну (ситуаційну) тривожність (РТ, № 1–20) та особистісну (ОТ, № 21–40) тривожність.

Стан ситуаційної тривожності виникає при потраплянні людини в стресову ситуацію, яка супроводжується суб'єктивним дискомфортом, неспокоєм, напруженням, вегетативним збудженням.

Шкала ситуативної тривожності (20 питань) проявляється наявністю емоційного напруження, неспокою (10), а 10 – відсутністю тривожності.

Особистісна тривожність, це конституційна риса, яка характеризується схильністю до сприйняття великого кола ситуацій як загрозливих, яка прямо корелює з наявністю невротичного конфлікту, з емоційними і невротичними зривами і психосоматичними захворюваннями.

При оцінюванні адаптаційних регуляторних механізмів організму, зокрема вегетативного балансу, ми використовували методику дослідження варіабельності ритму серця (ВРС) відповідно до стандартів Робочої групи Європейського Кардіологічного Товариства і Північно-американського товариства стимуляції та електрофізіології [8].

Для аналізу ВРС використовували регістратор ритмограм «КардіоСпектр», модель РПВ 1(АО Сольвейг, Україна) за стандартизова-

ною методикою [9]. Під час аналізу ВРС визначались наступні показники, які відображають в реальному часі стан регуляторних систем для вирішення прогностичних, діагностичних та лікувальних завдань:

NN – ряд нормальних R-R інтервалів з виключенням екстрасистол;

SDNN – стандартне відхилення NN інтервалів, яке вказує на сумарний ефект впливу на синусний вузол симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи.

RMSSD – квадратний корінь з суми квадратів різниці величин послідовних пар інтервалів NN, відображає швидкі високочастотні коливання в структурі ВРС, які відображають парасимпатичну активність;

ІН (індекс напруги) – характеризує ступінь напруження механізмів регуляції серцевого ритму;

pNN50 – відсоток NN50 від загальної кількості послідовних пар і інтервалів, що розрізняються більш ніж на 50 мілісекунд, отриманих за весь період запису, аналогічний до RMSSD;

TP (загальна потужність спектру) – відображає сумарний вплив регуляторних систем на серцевий ритм;

HF – високочастотні (High Frequency) компоненти спектру ВРС, пов'язані з дихальними рухами і відображають вагусний контроль серцевого ритму;

LF – низькочастотні (Low Frequency) компоненти спектру ВРС, відображають активність вазомоторного центру, який регулює судинний тонус;

VLF – дуже низькочастотні (Very Low Frequency) компоненти спектру, відображають вплив вищих вегетативних центрів на серцево-судинний підкорковий центр (симпатикоадреналову активність) і стан нейрогуморального та метаболічного рівнів регуляції ерготропних систем, відповідальних за адаптацію;

LF/HF – баланс (співвідношення) симпатичної та парасимпатичної ВНС;

ІЦ (індекс централізації) – характеризує ступінь переважання центральних механізмів регуляції, над автономними.

На тлі проведення збору суб'єктивної симптоматики, за результатами опитування і безпосереднього контакту у студентів визначали показники ЧСС і артеріального тиску (АТ).

Статистичну обробку матеріалів дослідження проводили з використанням методів біоста-

тики, реалізованих у пакеті програм Statistica v.6.1 (Statsoft Inc., США). Оцінка вірогідності відмінностей середніх для незв'язаних та зв'язаних вибірок проводилась за критеріями Стюдента (t). Критичне значення рівня значимості (p) приймалося $\leq 0,05$. Для оцінки взаємозв'язку між ознаками виконувався кореляційний аналіз з розрахунком коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена (r).

Результати дослідження та обговорення

На початку дослідження оцінювались показники гемодинаміки, так в основній групі студентів показники ЧСС в спокої становила $(76,64 \pm 3,85)$ уд/хв, САТ – $(126,43 \pm 4,05)$ мм рт.ст., ДАТ – $(72,6 \pm 2,14)$ мм рт.ст. Серед студентів контрольної групи ЧСС становила $(72,48 \pm 2,66)$ уд/хв, показники АТ були наступними – САТ $(124,37 \pm 2,53)$ мм рт.ст., діастолічний – $(69,26 \pm 1,15)$ мм рт.ст.

Ступінь вираженості ознак вегетативної дисфункції оцінювали за даними опитувальника О.М. Вейна, при цьому була виявлена наступна клінічна симптоматика (табл. 1).

За результатами даними опитувальника Вейна в основній групі студентів середній бал становив $36,12 \pm 4,26$ бали, в контрольній – $12,13 \pm 1,68$ бали ($p < 0,001$).

При цьому симптоматика виявлена в основній групі за шкалою Вейна тісно перепліталась із результатами отриманими за Наймігенським опитувальником (табл. 2). Так в основній групі позитивний результат 28–52 бали відмічався у 71,95 % осіб, що свідчило про присутність у цієї групи студентів ознак ГВС. При цьому у решти 23 студентів основної групи результат був від'ємний – і становив 24 бали і менше, хоча за даними шкали Вейна у них виявлялись симптоми вегетативної дисфункції. Серед студентів контрольної групи цей показник становив $(20,14 \pm 1,26)$ бали.

Серед скарг виявлених за даними Наймігенського опитувальника (табл. 2), найчастіше відмічались запаморочення – у (57,63 %) осіб, потемніння в очах – у (37,29 %) випадків. Крім того, 46,55 % студентів цієї групи в умовах психоемоційного напруження, хвилювання відмічали коротке дихання, у 54,24 % осіб виявлялось відчуття обмеження глибокого вдиху. Також, за даними анкетування у третини пацієнтів виявлялись холодні руки і ноги, замінення обличчя, відчуття надмірного серцебиття, здуття живота.

Таблиця 1 –Ознаки вегетативної дисфункції виявлені серед студентів основної і контрольної груп за даними опитувальника О. М. Вейна

Показники	Основна група		Контрольна група		p
	абс	%	абс	%	
1. Схильність при хвилюванні до:					
- почервоніння обличчя	33	40,24	4	25	< 0,05
- блідості обличчя	44	53,66	3	18,75	< 0,05
2. Заніміння або похолодання:	43	51,81	-	-	
- пальців рук, ступнів	31	37,80	-	-	
- цілком кистів, ступнів	12	14,63	-	-	
3. Зміна забарвлення (блідість, гіперемія, синюшність):					
- пальців рук, ступнів	15	18,29	-	-	
- цілком кистей, ступнів					
4. Підвищена пітливість	48	58,54	1	6,25	
5. Відчуття серцебиття, завмирання	38	43,64	3	18,75	
6. Утруднене дихання:					
- відчуття нестачі повітря,	45	54,88	-	-	
- прискорене дихання	11	13,41	-	-	
7. Розлади травлення: здуття живота, болі, закрепи, проноси	29	35,37	1	6,25	
8. Синкопе, передсинкопе					
- в душному приміщенні,	18	24,39	-	-	
- при хвилюванні,					
- при тривалому перебуванні у вертикальному положенні					
9. Напади цефалгій	57	69,51	5	31,25	
- дифузні	40	70,18	3	18,75	
- гемікранія	16	28,07	-	-	
- в ділянці потилиці	33	57,89	-	-	
- в лобній-скроневій ділянці	28	49,12	1	6,25	
- в тімені	32	39,02	1	6,25	
10. Зниження працездатності					
- швидка втомлюваність	73	89,02	1	6,25	
11. Розлади сну	40	48,78	-	-	
- труднощі засипання					
- поверхневий сон,					
- часті прокидання					
- відчуття невиспаності					

Кардіалгії, що мали місце у невеликого числа пацієнтів, виникали переважно без причин в стані спокою, були нетривалими, ниючими, або іноді у вигляді «проколів» і суттєво не перешкождали повсякденній діяльності [10].

Крім того, у частини хворих основної групи виявлялися так звані гіпервентіляційні еквіваленти у вигляді скарг на періодичний кашель –

у 15,52 % хворих, епізодичні зітхання в стані спокою – у 13,79 % хворих, позіхання у 25,86 % хворих, сопіння – у 10,34 % хворих [11].

Поруч із респіраторною симптоматикою серед цих хворих під час опитування часто виявлялися скарги психічного характеру: відчуття тривоги, страху, хвилювання, надмірної

психоемоційної лабільності. Що свідчить про певні ознаки дисфункції лімбічної системи, нейрони якої отримують імпульсацію від кори, підкоркових ядер, таламуса, гіпоталамуса, ретикулярної формації і всіх внутрішніх орга-

нів. Саме вона приймає участь в управлінні вегетативними функціями, емоційною та інстинктивною поведінкою, а також впливає на зміну фаз сну, на щоденну психічного та фізичну активність.

Таблиця 2 – Результати Наймігенського опитування серед студентів основної і контрольної груп (%)

Симптоми ГВС виявлені при анкетуванні	К-сть випадків	
	Основна група n = 59	Контрольна група n = 19
Біль в грудях	15,25	-
Відчуття напруження	27,12	15,78
Потемніння в очах	37,29	-
Запаморочення	57,63	26,3
Замішання в оточуючому середовищі	18,64	5,26
Прискорене та глибоке дихання	20,34	-
Коротке дихання	54,24	-
Стиснення в грудях	15,25	-
Неможливість глибокого дихання	45,76	-
Відчуття здутого живота	30,51	-
Тремор пальців	23,73	-
Тугі пальці рук	5,08	-
Заніміння навколо рота	28,81	-
Холодні руки та ноги	38,98	-
Серцебиття	44,07	-
Відчуття страху, переживання	23,73	10,52

Для оцінки психоемоційного стану, тривожності у студентів ми використовували шкалу Спілбергера–Ханіна (STAI) – визначали стан особистісної та ситуаційної (реактивної) тривожності.

За даними тестування в усіх студентів основної групи були виявлені різні ступені ознаки тривожності (табл. 3).

За результатами останнього дослідження в основній групі студентів переважали прояви помірної та високої тривожності, в той же час в контрольній групі відмічались поодинокі випадки проявів низької тривожності.

При цьому відмітити, що в основній групі більше балів набрали студенти із симптомами особистісної тривоги, яка супроводжувалась серед молодих людей емоційними «вибухами»

(56,1 %), невротичними конфліктами (35,37 %), відчуттям невпевненості (46,34 %) і переживань (37,8 %) тощо.

Також потрібно відмітити, що в основній групі спостерігався високий зв'язок двох взаємопов'язаних явищ: тривоги (замішання, страху, переживань) і проявів гіпервентиляційного синдрому – ($r = 0,76$).

Крім того, на тлі тривожно-невротичної симптоматики, ознак ГВС у значної частини студентів основної групи (71,95 %) за результатами опитування виявлені прояви соматоформної вегетативної дисфункції (відповідно до МКХ-10 F45.3). Що свідчить про певні психічні і соматичні взаємозв'язки і пов'язані з ними прояви дезадаптації серед цих молодих людей.

Таблиця 3 – Оцінка ступенів тривожності серед студентів основної та контрольної груп за шкалою Спілбергера–Ханіна

Ступінь тривожності	Сума балів		
	Основна група	Контрольна група	p
Низька	26,1 ± 1,52 (n = 10)	22,5 ± 1,0 (n = 4)	> 0,5
Помірна	56,21 ± 3,88 (n = 42)	35,0 ± 1,41 (n = 2)	< 0,01
Висока	41,13 ± 2,76 (n = 30)	-	-

Важливим діагностичним доповненням до проведеного анкетування для цілісної оцінки регуляторних властивостей ВНС є дослідження варіабельності серцевого ритму [12]. Застосування неінвазивного методу вивчення ВСР при обстеженні молодих людей підкреслює його необхідність для оцінки стану нейрогуморальних механізмів регуляції фізіологічних функцій й адаптаційних реакцій цілісного організму в умовах динамічного «хаосу».

Аналіз ВСР був проведений у 51 студента основної групи, які за даними Наймігенського опитувальника мали від 30 до 52 балів і у яких за шкалою Спілбергера–Ханіна виявлені ознаки помірної та високої тривожності.

Результати отриманих ритмограм дозволили за стандартними показниками виявити наступні особливості вегетативного тону ВНС (табл. 4).

Таблиця 4 – Оцінка стану вегетативного балансу в студентів основної і контрольної групи за даними ВСР

Стан тону вегетативної нервової системи	Отримані результати (%)	
	Основна група (n = 51)	Контрольна група (n = 14)
Симпатикотонія і парасимпатикотонія	43,14 (n = 22)	7,14 (n = 1)
Відносна симпатикотонія (низька парасимпатична активність)	13,73 (n = 7)	14,29 (n = 2)
Симпатикотонія, нормальна парасимпатична активність	11,76 (n = 6)	16,07 (n = 4)
Симпатична активність нормальна, парасимпатикотонія	15,69 (n = 8)	21,43 (n = 4)
Симпатична та парасимпатична активність знижені	7,84 (n = 4)	7,14 (n = 1)
Нормотонія	7,84 (n = 3)	50,0 (n = 7)

Встановлено, що у 43,14 % студентів основної групи виявлено одночасне зростання симпатичної (LF, мс², VLF, мс²) і парасимпатичної активності (HF, мс², SDNN, мс, RMSSD, мс), що може свідчити про напруження компенсаторних механізмів – тону парасимпатичної активності, яка в стані спокою, в нормі домінує над симпатичним впливом, завдяки двом незалежним механізмам: холінергічно індуковано-

му зниженню визволення норадреналіну у відповідь на симпатичну стимуляцію і холінергічному пригніченню відповіді на адренергічний стимул.

Також у 13,73 % осіб мала місце відносна симпатикотонія на тлі достовірного зменшення вагусної активності – низьких показників SDNN і HF, відповідно до 52,48 ± 4,16 мс і 716,83 ± 45,8 мс², проти показників 67,19 ±

3,64 мс і $1374,7 \pm 126,6$ мс² отриманих в контрольній групі студентів, відповідно.

Крім того, були виявлені випадки домінування парасимпатичної активності на тлі нормальних показників симпатичної, показники останньої не різнились від результатів отриманих в контрольній групі.

Таким чином ми спостерігали динаміку парасимпатичного впливу – від зниження до зростання її активності, що свідчить про напруженість механізмів вегетативної регуляції серед студентів основної групи із відповідною симптоматикою.

Також, встановлено зростання ІЦ в основній групі ($3,02 \pm 0,2$) ум.од., проти показника ($1,17 \pm 0,2$) ум.од. отриманого в контрольній групі ($p < 0,05$), що свідчить про перевагу активності центрального контуру над автономним.

Виявлені зміни вегетативного тону супроводжувались достовірним зростанням загальної спектральної потужності до ($3594,3 \pm 114,0$) мс² переважаючи показник ($2130,1 \pm 144,0$) мс² отриманий в контрольній групі. Даний результат вказує на підвищення рівня нейрогуморальної ланки механізму адаптації в основній групі студентів, а також про компенсаторне зростання вагусної імпульсації для вирівнювання нейровегетативного балансу.

Conclusions/Висновки

Встановлено, що своєчасне застосування стандартизованих опитувальників, аналіз ВСР серед студентів молодших курсів дозволяє на початку навчального року швидко виявити групу ризику з проявами дезадаптаційного синдрому, психовегетативної дисфункції, і рекомендувати при потребі проведення поглибленого клі-

Слід відмітити, що стан нормотонії відмічалась в 50 % осіб контрольної групи, проти 7,84 % отриманого в основній групі.

Таким чином, виявлені в основній групі студентів клінічні ознаки вегетативного дисбалансу, чітко поєднувались із проявами ГВС, підвищеною тривожністю і змінами кардіоритмограми, соматичними відхиленнями, тобто ми маємо ситуацію, яка повертає нас до витоків цієї проблеми, існуючої у вигляді «психосоматичних розладів», що і нині стверджує її актуальність [13]. Саме поширеність подібних змін серед населення, коливається за різними даними від 15 до 60 %. При цьому рівень захворюваності може зростати за рахунок наявності в одного і того ж пацієнта декількох психосоматичних розладів, що потребує їх своєчасного виявлення і лікування, ще в молодому віці.

Тому в даний час науковий інтерес представляє поглиблене вивчення зв'язків психовегетативних і психоендокринних механізмів регуляції процесів адаптації серед молоді із супутньою соматичною симптоматикою.

Застосовані методи дослідження функціонального стану регуляторних систем у молодих людей можна використовувати для динамічної оцінки впливу навчального процесу, зміни стереотипу життя на індивідуальні адаптаційні механізми у студентів молодших курсів та контролю корекції виявлених змін.

нічного обстеження та застосування лікувально-оздоровчих заходів для покращення якості життя студентів.

В клінічній практиці обов'язковим є дослідження взаємозв'язку соматичних і психічних розладів, порушень адаптації, що відповідає відомому принципу проголошеному ще Гіппократом – «лікувати не хворобу, а хворого».

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Подальше поглиблене вивчення зв'язків психовегетативних і психоендокринних механізмів регуляції процесів адаптації серед студентів із супутньою соматичною патологією.

References/Список літератури

1. Veyn AM. *Vegetativnyye rasstroystva: klinika, diagnostika, lecheniye* [Vegetative disorders: clinical picture, diagnosis, treatment]. Meditsinskoye informatsionnoye agentstvo Publ., 2003. 752p.
2. Ocheretnyuk AO, Lysenko DA, Palamarchuk OV, Zakalata TR, Kernychnyy VV. [The problem of adaptation of first-year medical students to the educational process]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu*. 2018;3(22), 543-547. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2018-22\(3\)-31](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2018-22(3)-31).

3. Casey P, Bailey S. Adjustment disorders: the state of the art . *World Psychiatry*. 2011;10 (1):11-18. <https://doi.org/10.1002/j.2051-5545.2011.tb00003.x>
4. Lisovyy VM, Kapustnyk VA, Markovskyy VD, Kozhyna HM. [Violation of adaptation of first course students to educational activities in higher educational institutions]. *Medychna osvita*. 2013;(2):61-64. <https://doi.org/10.11603/me.v0i2.877>
5. Sheyko NI, Feketa VP. [Possibilities of using a standardized questionnaire to determine autonomous dysfunctions in young people]. *Zdobutky klinichnoyi i eksperymental'noyi medytsyny*. 2019;(2):170-174. <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2019.v0i2.10137>
6. Dixhoom JVan, Duivenvoorden HJ. Efficacy of Nijmegen questionnaire in recognition of the hyperventilation syndrome. *J. Psychosomatic Res*. 2004;29:199-206. [https://doi.org/10.1016/0022-3999\(85\)90042-x](https://doi.org/10.1016/0022-3999(85)90042-x).
7. Khan D. [Psychogenic hyperventilation syndrome]. *Psykhatriya, nevrolohiya ta medychna psykhohiia*. 2018; 4(2 (8), 109-111
8. Bayevskiy RM, Ivanov GG. *Variabel'nost' serdechnogo ritma: teoreticheskiye aspekty i vozmozhnosti klinicheskogo primeneniya*. [Heart rate variability: theoretical aspects and possibilities of clinical application]. Moskva. 2003.
9. Low A, McCraty R, Low A. Heart rate variability: New perspectives on assessment of stress and health risk at the workplace. *Heart Mind*. 2018; 2:16-27. https://DOI.org/10.4103/hm.hm_11_18
10. Mestanik M, Tonhajzerova I. Respiratory sinus arrhythmia as a non-invasive index of 'brain-heart' interaction in stress. *Indian J. Med. Res*. 2016;144(6):815-822. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1447_14
11. Skyba OO. [Pathogenetic features of formation of vegetative dysfunctions in adolescents depending on their morphological status]. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine*. 2017;1 (8):46-50.
12. Nikhil S, Kegan JM. Heart rate variability: An old metric with new meaning in the era of using MHealth technologies for health and exercise training guidance. *Arrhythmia & Electrophysiology Review*. 2018;7 (4):P. 247-255. <https://doi.org/10.15420/aer.2018.30.2>.
13. Kioseva OV. [Tutor's psycho-educational support as a factor of prevention of adaptation disorders in students]. *Visnyk sotsial'noyi hihiyeny ta orhanizatsiyi okhorony zdorov'ya Ukrayiny*. (2016);(2):46-51. <https://doi.org/10.11603/1681-2786.2016.2.6740>

(received 12.11.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 12.11.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Information about the authors/Відомості про авторів

Максим'як Мар'яна Вікторівна, викладач кафедри медицини катастроф та військової медицини, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька 2, м. Івано-Франківськ 76000 (marianamak@ukr.net, 0999228614).

Солтисік Леся Миколаївна, викладач кафедри медицини катастроф та військової медицини, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька 2, м. Івано-Франківськ 76000.

Овчар Анна Ігорівна, старший викладач кафедри медицини катастроф та військової медицини, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька 2, м. Івано-Франківськ 76000.

Левченко Валерій Анатолійович, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри медицини катастроф та військової медицини, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька 2, м. Івано-Франківськ 76000.



Abstract

Andrii V. Kurochkin¹

<https://orcid.org/0000-0002-5080-7529>

Yulia V. Moskalenko²

<https://orcid.org/0000-0002-5398-0298>

Roman A. Moskalenko³

<https://orcid.org/0000-0002-2342-0337>

Oleksandr V. Kravets⁴

<https://orcid.org/0000-0003-3394-6671>

Vitalii V. Kuzmenko⁵

<https://orcid.org/0000-0003-3304-8935>

¹Sumy Regional Council Municipal Non-Profit Enterprise «Sumy Regional Clinical Oncology Center», Sumy, Ukraine;

²Department of Oncology and Radiology, Sumy State University, Sumy, Ukraine;

³Department of Pathology, Sumy State University, Sumy, Ukraine;

⁴Department of Surgery, Traumatology, Orthopedics and Phthisiology, Sumy State University, Sumy, Ukraine;

⁵Sumy State University, Sumy, Ukraine

DETECTION OF SENTINEL LYMPH NODES IN PATIENTS WITH THYROID CANCER WITH THE USE OF TOLUIDINE BLUE

Introduction. Treatment of patients with thyroid cancer (TC) with clinically undetected metastases to regional lymph nodes remains an unsolved problem of modern oncology. The search for reliable diagnostic methods, which underlie the decision to perform an adequate lymphadenectomy for TC, is one of the priorities of oncosurgery.

The aim of the research: to find an effective method of intraoperative contrasting of sentinel lymph nodes (SLN) in patients with TC using toluidine blue and to evaluate its effectiveness.

Methods. A study of 123 patients with TC who underwent surgical treatment using the contrast-visual method in the amount of thyroidectomy with central and bilateral selective cervical lymph node dissection (levels VI; IIA; III; IV). During surgery, a 1% solution of toluidine blue was injected into the tumor using a syringe. Surgical treatment was performed in two stages. At the first stage – thyroidectomy was performed in a block with a central lymphatic collector of the neck (level IV), which included removal of paratracheal, prelaryngeal, parathyroid tissue of the neck. Urgent intraoperative histological examination of thyroid tumor and distant SLN was performed. In the second stage of the operation performed cervical lymph node dissection with removal of fiber IIA; III; IV levels of the neck, with mandatory revision of the level of VB. After the operation, the final histological examination of the removed specimen with the tumor and all lymph nodes was performed.

Results. After the application contrasting technique, SLN were found in 120 (97.6%) patients. Their number varied from 2 to 12. These lymph nodes were mainly localized in the central collector of the neck on the side of the primary tumor (central, ipsilateral SLN) in 91 (75.8%) patients. Based on the results of an intraoperative study of SLN, metastases were found in 33 (27.5%) of 120 patients. In most cases (83.3%) SLNs were detected in the central lymphatic collector of the neck (level VI). In 76 (63.3%) patients, staining of the lymph nodes of the III level of the neck (middle ipsilateral jugular lymphatic collector) occurred, in 11 (9.2%) SLNs were found only at levels III, IV and VB of the neck. Very rarely (5.8%), the lymph nodes of the anterior-superior mediastinum were contrasted.

Conclusions. The method of contrast visualization of the regional collector in patients with TC using a 1% solution of toluidine blue is a

highly informative study that allows to determine the regional lymph nodes affected by metastases and to differentiate the choice of the volume of lymph node dissection in the early stages of tumors. The method is simple to implement, does not involve considerable costs and can be recommended for use in oncology clinics.

Keywords: thyroid gland, cancer, surgical treatment, lymph node dissection, contrasting, toluidine blue.

Corresponding author:

Yulia V. Moskalenko, Department of Oncology and Radiology, Sumy State University, Sumy, Ukraine
e-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

Резюме

Андрій В. Курочкін¹

<https://orcid.org/0000-0002-5080-7529>

Юлія В. Москаленко²

<https://orcid.org/0000-0002-5398-0298>

Роман А. Москаленко³

<https://orcid.org/0000-0002-2342-0337>

Олександр В. Кравець⁴

<https://orcid.org/0000-0003-3394-6671>

Віталій В. Кузьменко⁵

<https://orcid.org/0000-0003-3304-8935>

¹КНП СОР «Сумський обласний клінічний онкологічний диспансер»;

²Кафедра онкології та радіології, Сумський державний університет, м. Суми, Україна;

³Кафедра патологічної анатомії, Сумський державний університет, м. Суми, Україна;

⁴Кафедра хірургії, травматології, ортопедії та фтизіатрії, Сумський державний університет, м. Суми, Україна;

⁵Сумський державний університет, м. Суми, Україна

ВИЯВЛЕННЯ СТОРОЖОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ТОЛУЇДИНОВОГО СИНЬОГО

Вступ. Лікування хворих на рак щитоподібної залози (РЩЗ) із клінічно невиявленими метастазами у регіонарні лімфатичні вузли залишається невирішеною проблемою сучасної онкології. Пошук надійних методів діагностики, на яких ґрунтується рішення про проведення адекватної лімфаденектомії при РЩЗ, є одним з пріоритетних напрямків онкохірургії.

Мета дослідження – пошук ефективного методу інтраопераційного контрастування сторожових лімфатичних вузлів (СЛВ) у хворих на РЩЗ за допомогою толуїдинового синього та оцінка його ефективності.

Методи. Проведене дослідження 123 хворих на РЩЗ, яким проводили оперативне лікування із застосуванням контрастно-візуального методу у обсязі тиреоїдектомії з центральною та двосторонньою селективною шийною лімфодисекцією (рівні VI; ІІА; ІІІ; ІV). Під час оперативного втручання у пухлину за допомогою шприца вводили 1% розчин толуїдинового синього. Оперативне лікування виконували у два етапи. На першому – проводилася тиреоїдектомія у блоці з центральним лімфоколектором ший (рівень ІV), який включав видалення паратрахеальної, преларингеальної, навколощитоподібної клітковини ший. Проводили термінове інтраопераційне гістологічне дослідження пухлини щитоподібної залози та віддалених СЛВ. На другому етапі операції виконували шийну лімфодисекцію з видаленням клітковини ІІА; ІІІ; ІV рівнів ший, з обов'язковою ревізією рівня VВ. Після операції проводили остаточне гістологічне дослідження видаленого препарату з пухлиною та усіх лімфатичних вузлів.

Результати. Після застосування методики контрастування СЛВ були виявлені у 120 (97,6%) хворих. Їх кількість варіювала від 2 до 12. Ці лімфатичні вузли в основному локалізувались у центральному колекторі ший на боці первинної пухлини (центральні, іпсилатеральні СЛВ) у 91 (75,8%) хворого. На підставі результатів інтраопераційного дослідження СЛВ метастази у них були виявлені у 33 (27,5 %) з 120 хворих. У переважній більшості випадків (83,3%) СЛВ визначалися в центральному лімфоколекторі ший (VI рівень). У 76 (63,3%) хворих відбулося фарбування лімфатичних вузлів ІІІ рівня ший (середній іпсилатеральний югулярний лімфоколектор), у 11 (9,2%) СЛВ були виявлені лише на ІІІ, ІV та VВ рівнях ший. До-

силь рідко (5,8%), контрастувалися лімфатичні вузли передньо-верхнього середостіння.

Висновки. Метод контрастної візуалізації регіонарного колектора у хворих на РЩЗ за допомогою 1% розчину толуїдинового синього є високоінформативним дослідженням, що дозволяє визначати уражені метастазами регіонарні лімфатичні вузли та диференційовано підходити до вибору об'єму лімфодисекції на ранніх стадіях пухлинного процесу. Метод простий у виконанні, не вимагає великих фінансових витрат і може бути рекомендованим для використання у онкологічних клініках.

Ключові слова: щитоподібна залоза, рак, оперативне лікування, лімфодисекція, контрастування, толуїдиновий синій.

Автор, відповідальний за листування:

Юлія В. Москаленко, кафедра онкології та радіології, Сумський державний університет, м. Суми, Україна
e-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua

How to cite/ Як цитувати статтю: Kurochkin AV, Moskalenko YuV, Moskalenko RA, Kravets OV, Kuzmenko VV. [Detection of sentinel lymph nodes in patients with thyroid cancer with the use of toluidine blue]. *EUMJ*. 2021;9(4):401-409

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):401-409](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):401-409)

Introduction/Вступ

Захворюваність на рак щитоподібної залози (РЩЗ) має тенденцію до щорічного зростання та протягом останніх 25 років збільшилася приблизно вдвічі. За абсолютним числом випадків РЩЗ є найпоширенішим захворюванням у структурі ендокринних пухлин людини. Тільки в 2020 році у світі було виявлено вперше 686 тисяч нових випадків РЩЗ, померли 43 тисячі хворих. Найбільш значне збільшення захворюваності спостерігається у США, Австралії і Новій Зеландії, країнах південної Європи та східної Азії [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Проблема РЩЗ є актуальною і в Україні, особливо після аварії на Чорнобильській АЕС. Статистичний облік РЩЗ в Україні розпочатий з 1989 року, коли захворюваність серед чоловіків становила 1,01 на 100 тис. населення, серед жінок – 3,54. Ці показники щорічно зростають. Так, загальна захворюваність на РЩЗ у 2012 р. в Україні становила 5,5 на 100 тис. населення (серед чоловіків – 2,2, серед жінок – 8,3), а у 2019 році – 9,3 (чоловіки – 3,8, жінки – 14,2). За стандартизованими показниками у 2019 році захворюваність в Україні перевищує світові показники на 26%, смертність – на 100% [7, 8].

Лікування хворих на РЩЗ із клінічно невиявленими метастазами у регіонарні лімфатичні вузли є невирішеною проблемою сучасної онкології. Основною причиною ігнорування цього питання була помилково прийня-

та до недавнього часу аксіома, що статус регіонарного лімфатичного колектору не є прогностично значимим чинником виживання хворих із диференційованим РЩЗ. Тому пошук надійних методів діагностики, на яких ґрунтується рішення про проведення адекватної лімфаденектомії за РЩЗ, у даний час є одним з пріоритетних напрямків у цій області хірургії. Новий напрямок хірургії РЩЗ – селективна лімфодисекція після морфологічного дослідження сторожового лімфоколектора. Сучасні можливості визначення сторожових лімфатичних вузлів (СЛВ) та вивчення їх морфологічного стану дозволяють отримати повну інформацію відносно стадії РЩЗ, адекватно планувати подальшу терапію та формувати прогноз індивідуально кожному хворому [9, 10, 11, 12, 13].

Для візуалізації СЛВ часто використовують ізосульфат блакитний, який має ряд побічних ефектів: забарвлює прилеглі тканини та жирову клітковину, що перешкоджає візуалізації тканинних структур та утруднює гістологічне дослідження. Використання цитохімічного барвника – 1% толуїдинового синього дозволяє усунути зазначені вище недоліки та суттєво підвищити якість біопсії СЛВ.

Мета дослідження: пошук ефективного методу інтраопераційного контрастування СЛВ у хворих на РЩЗ за допомогою толуїдинового синього та оцінка його ефективності.

Матеріали і методи

До групи дослідження увійшли 123 хворих на РЩЗ (папілярний та фолікулярний тип пухлини), у яких на етапі клінічного обстеження не було виявлено ознак регіонарного метастазування у шийні лімфатичні вузли (сT1-4N0M0). Жінок було 108 (87,8%), чоловіків – 15 (12,2%). Оперативне лікування проводилося із застосуванням контрастно-візуального методу у обсязі тиреоїдектомії з центральною та двосторонньою селективною шийною лімфодисекцією (рівні VI; II-A; III; IV).

На підставі цитологічного висновку пунктату пухлини папілярний рак діагностовано у 105 (85,4%) хворих, фолікулярний рак – у 18 (14,6%). Ступінь поширеності раку, визначався за клініко-морфологічною класифікацією пухлин щитоподібної залози (ЩЗ) за системою TNM. Друга стадія пухлинного процесу встановлена у 88 (71,5%) хворих, перша – у 27 (22%), третя – у 8 (6,5%). Діагноз РЩЗ, його гістологічна форма, локалізація, розміри пухлини, ступінь її поширення та регіонарного метастазування підтверджувалися спеціальними методами обстеження (комп'ютерна томографія та ультразвукове дослідження ЩЗ і усіх зон шиї з пункцією та подальшим цитологічним дослідженням).

Використовували стандартний оперативний доступ за Кохером з продовженням розрізів в обидва боки у модифікації Мак-Вея. З метою максимального збереження лімфовенозних шляхів для кращої візуалізації регіонарного лімфатичного колектора передня поверхня ЩЗ оголювалася тільки у зоні пухлини (рис. 1). В тканину пухлини за допомогою шприца вводили 1% розчин толуїдинового синього (рис. 2). У випадках, коли пухлина локалізувалась не більше ніж 1 см від передньої поверхні ЩЗ, для введення контрастної речовини використовували інсуліновий шприц. У разі розташування пухлини глибше 1 см використовували стандартний шприц з діаметром голки 25G. Об'єм введеного в пухлину ЩЗ розчину толуїдинового синього визначався за формулою:

$$V_{\text{(контраст)}} = \frac{V_{\text{(долі ЩЗ)}}}{10};$$

де $V_{\text{(контраст)}}$ – об'єм 1% толуїдинового синього (ml);

$V_{\text{(долі ЩЗ)}}$ – об'єм долі ЩЗ, ураженої пухлиною, визначений за допомогою комп'ютерної томографії або УЗ дослідження.

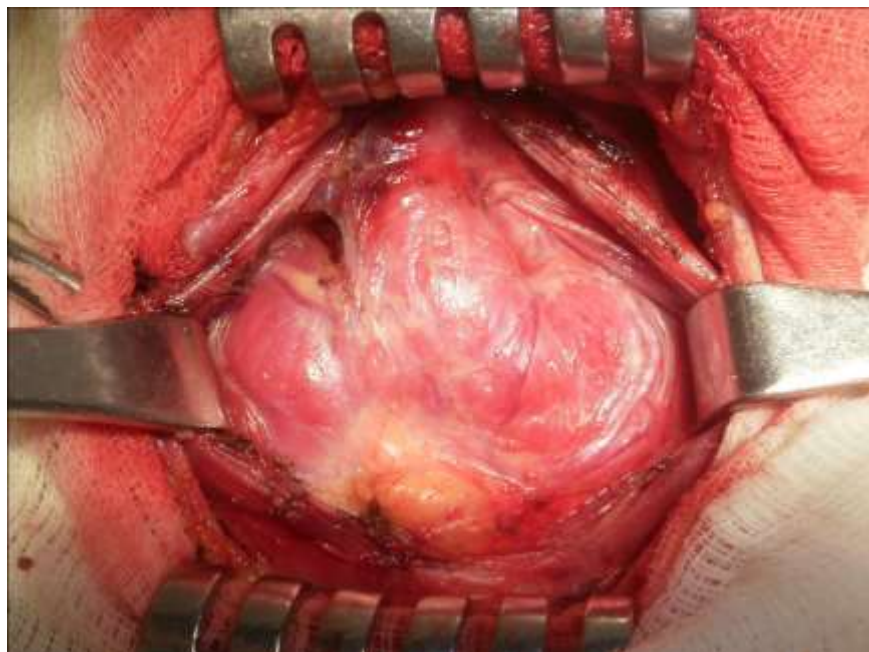


Рисунок 1 – Виділення щитоподібної залози з пухлиною

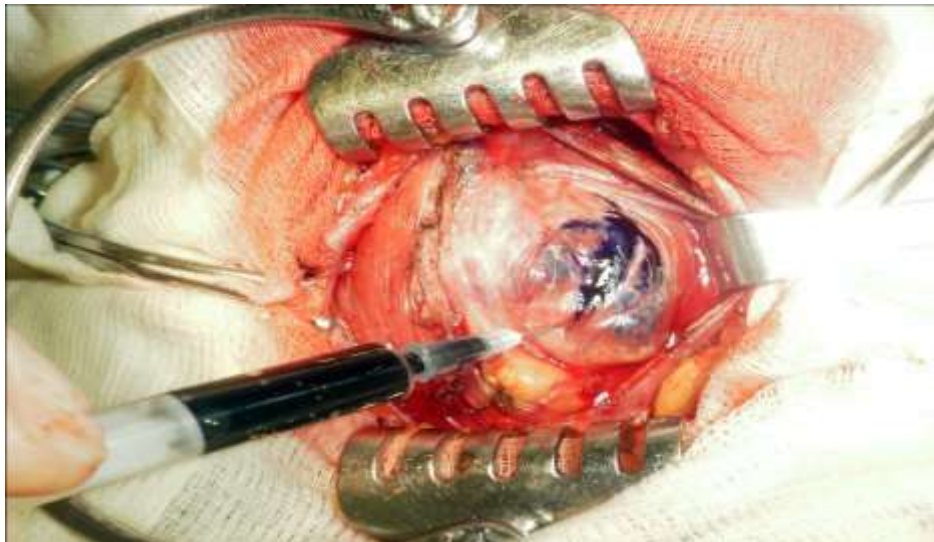


Рисунок 2 – Введення в пухлину розчину барвника

Середній об'єм 1% толуїдинового синього, що вводився в пухлину, становив 1,2 ml (мінімальний – 0,9 ml, максимальний – 1,6 ml).

Після введення контрасту в пухлину, місце пункції протягом однієї хвилини притискали марлевою кулькою з метою запобігання його виті-

канню та фарбуванню сусідніх тканин. Потім протягом 2-3 хвилин проводили легкий масаж частки ЩЗ для покращення відтоку контрасту лімфатичними шляхами і відповідно кращої візуалізації регіонарного лімфоколектора (рис. 3).

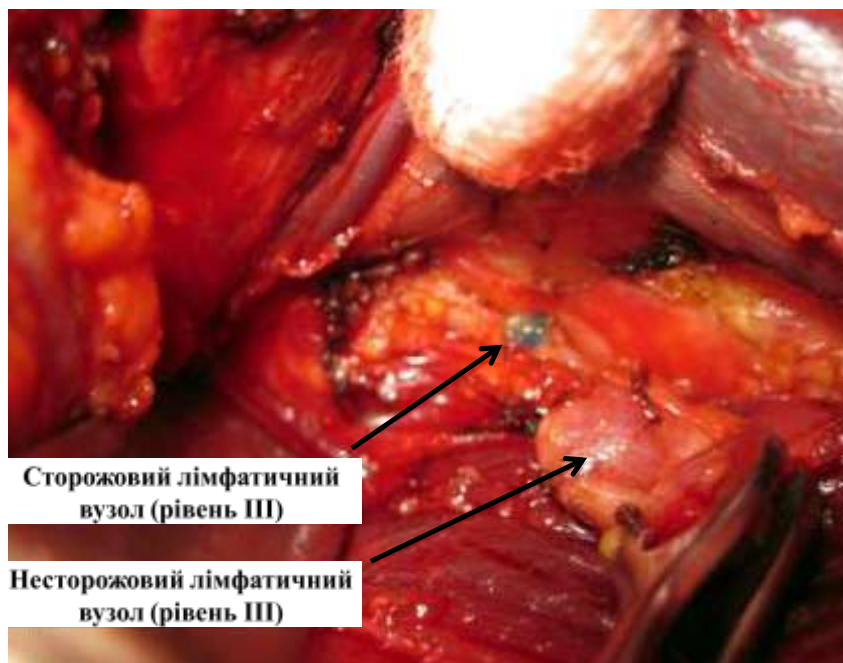


Рисунок 3 – Визначення регіонарних лімфатичних вузлів

Оперативне лікування проводилося у два етапи. На першому – проводилася тиреоїдектомія в блоці з центральним лімфоколектором шії (рівень IV), який включав видалення паратрахеальної, преларингеальної, навколощитоподібної клітковини шії. Особливу увагу звертали на виділення усіх лімфатичних вузлів (сторожових

та несторожових). Обов'язковою умовою було дотримання зональності віддалених лімфатичних вузлів. Проводили термінове інтраопераційне гістологічне дослідження пухлини ЩЗ та віддалених СЛВ.

На другому етапі операції виконували шийну ліфодисекцію з видаленням клітковини ІА; ІІІ;

IV рівнів шиї, з обов'язковою ревізією рівня VB. Також проводилося виділення усіх лімфатичних вузлів (забарвлених та незабарвлених) та термінове гістологічне дослідження забарвлених лімфатичних вузлів.

Після операції проводили остаточне гістологічне дослідження видаленого препарату з пухлиною та усіх лімфатичних вузлів. Гістологічний матеріал фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали в етанолах з наступним приготуванням парафінових блоків. Препарати фарбували гематоксиліном та еозином. Морфологічна оцінка препаратів проводилася на мікроскопі «Carl Zeiss PrimoStar», (Німеччина).

Результати дослідження

Після застосування вказаної методики контрастування СЛВ були виявлені у 120 (97,6%) хворих. Їх кількість варіювала від 2 до 12 (у середньому 4). Ці лімфатичні вузли в основному локалізувались у центральному колекторі шиї

на боці первинної пухлини (центральної, іпсилатеральної СЛВ) у 91 (75,8%) хворого.

На підставі результатів інтраопераційного дослідження СЛВ метастази у них були виявлені у 33 (27,5 %) з 120 хворих. Під час інтраопераційного дослідження чотири хворих не мали метастазів у зазначені лімфатичні вузли. Метастатичний процес у них був підтверджений на підставі остаточного гістологічного дослідження (рис. 4 А).

При гістологічному дослідженні метастази РЩЗ частіше виявлялися у субкапсулярних зонах лімфатичного вузла. У деяких випадках тканина метастазу витісняла лімфоїдну тканину, повністю заповнюючи весь простір вузла. У випадках метастатичного ураження папілярним РЩЗ виявлялися псаммомні тілця серед пухлинної тканини (рис. 4 Б), або розміщалися в субкапсулярній зоні солітарно, без пухлинних клітин.

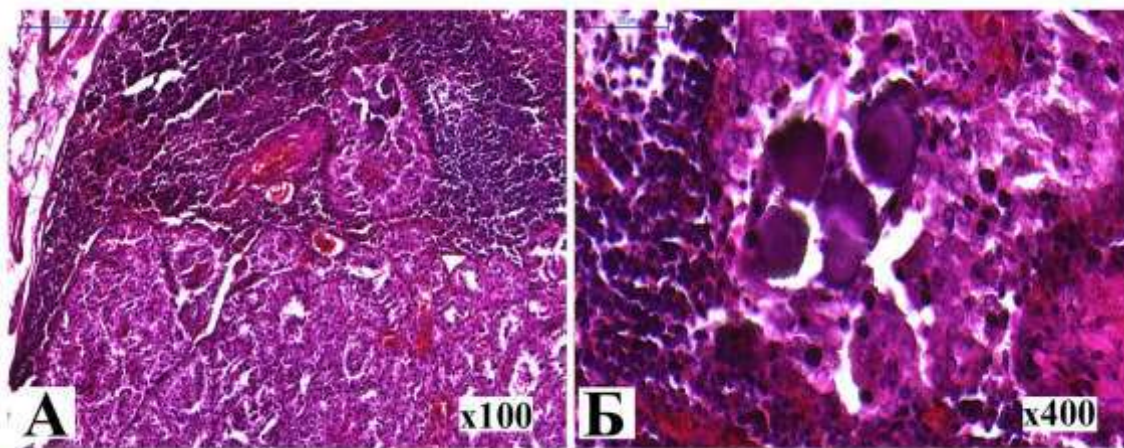


Рисунок 4 – Гістологічне дослідження лімфатичного вузла з метастазом РЩЗ. Забарвлення гематоксиліном та еозином. А – тканина метастазу з ознаками папілярної та фолікулярної будови у лімфатичному вузлі, Б – формування мінералізованих псаммомних тілець у метастатичній тканині. Збільшення вказано у правому нижньому куті мікрофотографії

Таким чином, метастази у СЛВ виявлені у 37 хворих (30,8%). Отже, негативний передбачуваний рівень (negative predictive value) інтраопераційного дослідження СЛВ становив 89,2% (33 із 37 випадків). У проведеному дослідженні не було діагностичних розбіжностей у визначенні позитивного статусу СЛВ під час інтраопераційного та остаточного гістологічного дослідження. Таким чином, позитивний передбачуваний рівень (positive predictive value) становив 100%. Метастатичний статус несторожових лімфатичних вузлів, заснований на остаточному гістологічному дослідженні, суворо корелював з таким показником у СЛВ, отже, хибно-

негативний показник у нашому дослідженні дорівнює нулю. Слід зазначити, що у 13 (35,1%) хворих метастатичний процес виявили лише у СЛВ.

Значний клінічний інтерес має частота виявлення СЛВ у різних рівнях шиї, що може вказувати на певну закономірність метастазування РЩЗ. У переважній більшості випадків (83,3%) СЛВ визначалися в центральному лімфоколекторі шиї (VI рівень). У 76 (63,3%) хворих відбулося фарбування лімфатичних вузлів III рівня шиї (середній іпсилатеральний югулярний лімфоколектор), у 11 (9,2%) СЛВ були виявлені лише на III, IV та VB рівнях шиї. Досить рідко

(5,8%), контрастувалися лімфатичні вузли передньо-верхнього середостіння.

Обговорення результатів

Незважаючи на те, що метод виявлення СЛВ використовується вже більше 30 років, у онкохірургії ЩЗ його місце остаточно не визначено. Дане дослідження не входить до жодного із сучасних протоколів лікування [14]. Також у концепції СЛВ зберігається велика кількість невирішених питань – від оптимальної техніки виконання до алгоритмів застосування та оцінки результатів дослідження [15]. Використання кожної конкретної методики визначення СЛВ багато у чому залежить від доступності тих чи інших діагностичних препаратів та оснащеності медичного закладу [16]. Пошук методів точної клінічної оцінки стану регіонарних лімфатичних

вузлів є перспективним напрямком сучасної онкології у зв'язку з тенденцією до індивідуалізації об'єму оперативного втручання, зокрема визначення показань до органозберігаючого лікування [11, 13]. Результати проведеного дослідження показують достатньо високу діагностичну ефективність у порівнянні з іншими методиками та простоту використання [14, 15, 16]. Використання запропонованої методики дозволить покращити результати лікування хворих на РЩЗ за рахунок вибору оптимального об'єму лімфодисекції. Крім того, методика дозволить уникнути необґрунтованих лімфодисекцій у категорії хворих із клінічно невизначеними метастазами, що дасть можливість у найкоротші терміни досягти реабілітації хворих, підвищити якість їх життя та віддалені результати лікування.

Conclusions/Висновки

Метод контрастної візуалізації регіонарного колектора у хворих на РЩЗ за допомогою 1% розчину толудинового синього є високоінформативним дослідженням, що дозволяє визначати уражені метастазами регіонарні лімфатичні вузли та диференційовано підходити до вибору

об'єму лімфодисекції на ранніх стадіях пухлинного процесу. Метод простий у виконанні, не вимагає великих фінансових витрат і, отже, може бути рекомендованим для використання у онкологічних клініках.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

У подальших дослідження доцільними є розробка оптимального методу введення контрасту для визначення СЛВ; вивчення можливих ускладнень у хворих, яким проводилося інтратуморальне введення толудинового синього; визначення показань до профілактичної лімфодисекції у хворих із клінічно невизначеними метастазами у лімфатичні вузли ший при диференційованому РЩЗ.

References/Список літератури

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–249. Doi: 10.3322/caac.21660.
2. Drozd V, Branovan DI., Reiners C. Increasing Incidence of Thyroid Carcinoma: Risk Factors and Seeking Approaches for Primary Prevention. *Int J Thyroidol.* 2020;13(2):95–110. Doi:10.11106/ijt.2020.13.2.95
3. Wiltshire JJ, Drake TM, Uttley L, Sabapathy PB. Systematic review of trends in the incidence rates of thyroid cancer. *Thyroid.* 2016;26(11):1541–52. Doi: 10.1089/thy.2016.0100
4. La Vecchia C, Malvezzi M, Bosetti C, Garavello W, Bertuccio P, Levi F, et al. Thyroid cancer mortality and incidence: a global overview. *Int J Cancer.* 2015;136(9):2187–95. Doi: 10.1002/ijc.29251
5. Li M, Brito JP, Vaccarella S, Salvatore V. Long-term declines of thyroid cancer mortality: an international age-period-cohort analysis. *Thyroid.* 2020;30(6):838–46. Doi: 10.1089/thy.2019.0684
6. Goodarzi1 E, Moslem A, Feizhadad H, Jarrahi AM, Adineh HA, Sohrabivafa M, et al. Epidemiology, Incidence and Mortality of Thyroid Cancer and their Relationship with the Human Development Index in the World: An Ecology Study in 2018. *Adv hum*

- biolog. 2019;9(2):162–167. Doi: 10.4103/AIHB.AIHB_2_19
7. Sydorenko OM, Sydorenko MO, Tymoshev MP. [The epidemiology of thyroid cancer in the twentieth and early twenty-first century in Ukraine and Zaporizhzhia region]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice* 2018;11(3):322–325. Doi: 10.14739/2409-2932.2018.3.144485 (In Ukrainian).
 8. Fedorenko ZP, Mykhailovych YuY, Hulak LO, Horoch EL, Ryzhov Ayu, Sumkina OV, et al. [Cancer in Ukraine, 2019–2020]. *Biuletyn natsionalnoho kantser-reiestru Ukrainy*. 2021;22:64–65. (in Ukrainian). http://ncru.inf.ua/publications/BULL_22/PDF/BULL_22.pdf
 9. Gambardella C, Tartaglia E, Nunziata A, Izzo G, Siciliano G, Cavallo F, et al. Clinical significance of prophylactic central compartment neck dissection in the treatment of clinically node-negative papillary thyroid cancer patients. *World J Surg Oncol*. 2016;19(14):247–250. Doi: 10.1186/s12957-016-1003-5.
 10. Cabrera RN, Chone CT, Zantut-Wittmann D, Matos P, Ferreira DM, Pereira PSG. Value of sentinel lymph node biopsy in papillary thyroid cancer: initial results of a prospective trial. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2015;272(4):971–979. Doi: 10.1007/s00405-014-3018-2.
 11. Shirley LA, Jones NB, Phay JE. The Role of Central Neck Lymph Node Dissection in the Management of Papillary Thyroid Cancer. *Front Oncol*. 2017;7:122. Doi: 10.3389/fonc.2017.00122.
 12. Seo JW, Han K, Lee J, Kim E-K, Moon HJ, Yoon JH, et al. Application of metabolomics in prediction of lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. *PloS ONE*. 2018;13(3): e0193883. Doi.org/10.1371/journal.pone.0193883
 13. Zhao WJ, Luo H, Zhou YM, Dai WY, Zhu JQ. Evaluating the effectiveness of prophylactic central neck dissection with total thyroidectomy for cN0 papillary thyroid carcinoma: An updated meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2017;43(11):1989–2000. Doi: 10.1016/j.ejso.2017.07.008
 14. Boriskova ME, Farafonova UV, Pankova PA, Bykov MA, Ramazanov EA, Feshenko NS, et al. [The role of defining the sentinel lymph node in the treatment of low-risk highly differentiated thyroid cancer (review of literature)]. *Grekov's Bulletin of Surgery*. 2020;179(3):107–112. (In Russian.). doi: 10.24884/0042-4625-2020-179-3-107-112.
 15. Garau LM, Rubello D, Muccioli S, Boni G, Volterrani D, Manca G. The sentinel lymph node biopsy technique in papillary thyroid carcinoma: The issue of false-negative findings. *Eur J Surg Oncol*. 2020;46(6):967–975. Doi: 10.1016/j.ejso.2020.02.007.
 16. Garau LM, Rubello D, Morganti R, Boni G, Volterrani D, Colletti PM, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy in Small Papillary Thyroid Cancer: A Meta-analysis. *Clin Nucl Med*. 2019;44(2):107–118. Doi: 10.1097/RLU.0000000000002378.

(received 20.11.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 20.11.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Курочкін Андрій Вікторович, лікар-онколог, КНП СОР «Сумський обласний клінічний онкологічний диспансер», вул. Привокзальна, 31, м. Суми, Україна, 40022

e-mail: kurochkin_a@ukr.net, тел.: 067-542-33-02, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5080-7529>

Москаленко Юлія Василівна, к.мед.н., доцент кафедри онкології та радіології Сумського державного університету, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, Україна, 40007

e-mail: yl.moskalenko@med.sumdu.edu.ua, тел.: 097-615-73-96, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5398-0298>

Москаленко Роман Андрійович, д.мед.н., доцент кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, Україна, 40007

e-mail: r.moskalenko@med.sumdu.edu.ua, тел.: 097-98-027-31, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2342-0337>



Кравець Олександр Валерійович, к.мед.н., доцент кафедри хірургії, травматології, ортопедії та фтизіатрії Сумського державного університету, вул. Троїцька, 48, м. Суми, Україна, 40022

e-mail: o.kravets@med.sumdu.edu.ua, тел.: 050-174-67-86, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3394-6671>

Кузьменко Віталій Вікторович, студент Сумського державного університету, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, Україна, 40007

e-mail: vetal042735@gmail.com, тел.: 096-011-70-09, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3304-8935>

Abstract

Anatoliy B. Sukharev,
Tetiana V. Kopytsia,
Volodymyr I. Boyko,
*Department of Obstetrics,
Gynecology and Family Planning,
Sumy State University, Sumy,
Ukraine*

**PECULIARITIES OF HORMONAL HOMEOSTASIS IN WOMEN
WITH DEFICIENT BODY WEIGHT**

Currently, among young women, the prevailing concept of female beauty is a slender figure with a poor subcutaneous fat layer. In this connection, many young girls use various diets and visit fitness clubs in order to lose body weight. After marriage, a significant number of them apply to family planning offices due to the failure to get pregnant after a year and more of regular sex life without contraception. The purpose of the research was to show the correlation between the levels of pituitary and ovarian hormones during the menstrual cycle and body weight deficit in women planning pregnancy.

The study was carried out at the City Clinical Maternity House during 2014–2019. The information was gathered by interviewing women with body weight deficit, who were planning pregnancy, and by analysis of hormone levels. We examined 327 patients. The content of follicle-stimulating hormones (FSH), luteinizing hormones (LH), prolactin, progesterone, estradiol, cortisol was studied. The subjects were divided into 4 groups depending on the body weight deficit: 1st group – a decrease in body weight of up to 5%, 2nd group – a decrease in body weight from 5 to 10%, 3rd group – from 10 to 15%, 4th group – more than 15%. The studied groups were also stratified according to the main etiological factor, namely: a) insufficient nutrition in quantitative and qualitative terms (starvation, some vitamin deficiencies, etc.); b) long-term physical exertion; c) long-term psycho-emotional stress; d) asocial lifestyle (alcoholism, substance abuse).

The results of the study showed changes in the level of hormones in response to the influence of these factors.

It was concluded that the most important factor that changed the level of hormones in the body was a causal relationship that caused weight loss. The most significant factors were: prolonged psycho-emotional stress and malnutrition, while prolonged physical exertion and unhealthy lifestyle were milder predisposing causes that led to changes in hormonal levels in case of underweight. To relieve psycho-emotional stress and optimize nutrition, it is necessary to manage patients together with a psychotherapist and a nutritionist.

Keywords: follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, progesterone, estradiol, prolactin, cortisol, prolonged psycho-emotional stress, malnutrition.

Corresponding author: T. V. Kopytsia, Department of Obstetrics, Gynecology and Family Planning, Sumy State University, Sumy, Ukraine
e-mail: t.kopica@med.sumdu.edu.ua

Резюме

Анатолій Б. Сухарєв,
Тетяна В. Копиця,
Володимир І.Бойко,
кафедра акушерства, гінекології
та планування сім'ї, м. Суми,
Україна

ОСОБЛИВОСТІ ГОРМОНАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ У ЖІНОК З ДЕФІЦИТОМ МАСИ ТІЛА

В даний час серед молодих жінок переважають уявлення про жіночу красу як струнку фігуру зі слабовираженим підшкірним жировим шаром. У зв'язку з чим багато молодих дівчат використовують різні дієти, заняття у фітнес-клубі з метою зниження маси тіла. Після одруження значна кількість з них звертається до кабінетів планування сім'ї у зв'язку з відсутністю вагітності після року та більше регулярного статевого життя без контрацепції. Метою дослідження було показано зв'язок між рівнями гормонів гіпофіза та яєчників під час менструального циклу та дефіцитом маси тіла жінок, які планують вагітність.

Дослідження проводилось на базі КНП "Сумський міський клінічний пологовий будинок Пресвятої Діви Марії" СМР протягом 2014–2019 років. Нами обстежено 327 пацієнток. Досліджено вміст гормонів фолікуло-стимулюючого (ФСГ), лютеїнізуючого (ЛГ), пролактину, прогестерону, естрадіолу, кортизолу. Обстежувані залежно від дефіциту маси тіла розділені на 4 групи: 1-а – зниження маси тіла до 5 %, 2-а – зниження маси тіла від 5 до 10 %, 3-я від 10 до 15 %, 4-а – зниження маси тіла більше 15 %. Досліджувані групи були також розділені за основним етіологічним фактором, а саме: а) недостатнє харчування в кількісному та якісному відношенні (голодування, деякі авітамінози тощо); б) тривалі фізичні навантаження; в) тривала психоемоційна напруга; г) асоціальний спосіб життя (алкоголізм, токсикоманія).

Результати дослідження показали зміни рівня гормонів у відповідь на вплив зазначених чинників.

Зроблено висновок, що найважливішим фактором, що змінює рівень гормонів в організмі, є причинний зв'язок, що викликає втрату маси тіла. Найбільш значущими є: тривале психоемоційне напруження і недостатнє харчування, тоді як тривалі фізичні навантаження і ведення нездорового життя є більш м'якими причинами, що викликають зміни гормонального фону при дефіциті маси тіла. Для зняття психоемоційної напруги та оптимізації харчування необхідне спільне ведення пацієнток із психотерапевтом та дієтологом.

Ключові слова: фолікуло-стимулюючий гормон, лютеїнізуючий гормон, прогестерон, естрадіол, пролактин, кортизол, тривала психоемоційна напруга, недостатнє харчування.

Автор, відповідальний за листування: Тетяна В. Копиця, кафедра акушерства, гінекології та планування сім'ї, м. Суми, Україна
e-mail: t.kopica@med.sumdu.edu.ua

How to cite/ Як цитувати статтю: Sukharev AB, Kopytsia TV, Boyko VI. Peculiarities of hormonal homeostasis in women with deficient body weight. EUMJ. 2021;9(4):410-415

DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):410-415](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):410-415)



Introduction/Вступ

Currently, a lot of research is devoted to the pathogenesis, the peculiarities of the obesity clinical picture and its connection with the functional disorders of the endocrine glands and metabolism [1, 4, 5, 6, 7]. At the same time, the question of the pathogenesis of body weight deficiency (BWD) and its influence on the reproductive function of women remains poorly understood [2, 3, 8]. The pathogenetic mechanisms of the development of menstrual dysfunction against the background of decreased body weight are associated with a disorder of the neurotransmitter metabolism of the central nervous system with a decrease in the release of GnRH. A certain role is played by a decrease in the amount of adipose tissue [9, 10, 11]. The body's response to weight loss is individual, and even a minor loss of body weight (3–10% decrease) can lead to the onset of the disease [12, 13, 14].

The objective of the study was to research the serum levels of pituitary and ovarian hormones during the menstrual cycle in underweight women planning pregnancy.

Materials and research methods

To determine prognosis of the reproductive potential in underweight women, we studied the state of hormonal balance during the menstrual cycle in 327 women. Standard body weight was calculated using Broca's index. Depending on the severity of underweight, we identified 4 degrees of BWD: 1st degree – a decrease in body weight of up to 5%, 2nd degree – a decrease in body weight from 5 to 10%, 3rd degree – from 10 to 15%, 4th degree – more than 15%.

The studied groups were also divided according to the main etiological factor, namely: a) insufficient nutrition in quantitative and qualitative terms (starvation, some vitamin deficiencies, etc.); b) long-term physical exertion; c) prolonged psycho-emotional stress; d) unhealthy lifestyle (alcoholism, substance abuse). The survey was carried out in connection with the absence of pregnancy in marriage for a year or more with regular sex life without contraception.

The content of estradiol, progesterone, follicle-stimulating and luteinizing hormones, prolactin, cortisol in the 1st and 2nd phases of the menstrual cycle was studied.

To characterize the reproductive function via the blood serum, the content of gonadotropic hormones follicle-stimulating (FSH), luteinizing

(LH) and prolactin, as well as sex steroids progesterone and estradiol in the follicular (on days 2–7) and luteal (on days 20–22) phases of menstrual cycle were studied.

Research results and discussion

When studying the content of estradiol in the 1st phase of the menstrual cycle in women, depending on the cause and degree of body weight deficiency, it was found that in the 1st study group, a significant decrease in the content of the hormone ($p < 0.05$) was observed only in patients with prolonged psycho-emotional stress (by 19.6%), while no significant changes were noted in other study subgroups. In the 2nd study group, there was a significant decrease in the hormone content ($p < 0.05$) in the subgroups with insufficient nutrition (by 21.6%) and with prolonged psycho-emotional stress (by 37.2%) with no significant changes in the long-term physical exertion and unhealthy lifestyle subgroups. In the third study group, as compared with the control group, a significant decrease in the level of the hormone was noted in the subgroups of insufficient nutrition (by 35.3%) and prolonged psycho-emotional stress (by 60.8%). A significant decrease was also found in the subgroup of long-term physical exertion (by 21.6%) and in the subgroup of patients leading an unhealthy lifestyle (by 19.6%). In the 4th study group, the content of estradiol in the subgroup with malnutrition as compared with the control group decreased by 58.8%, in prolonged physical exertion subgroup – by 27.5%, in prolonged psycho-emotional stress subgroup – by 68.6%, in unhealthy lifestyle subgroup – by 39.2%.

A similar picture was observed with the changes of progesterone content over time in the 1st phase of the menstrual cycle. Thus, in the 1st study group, a significant decrease in the content of this hormone was observed only in women with prolonged psycho-emotional stress (by 23.0%), while in the 2nd study group, the content of progesterone was significantly ($p < 0.05$) decreased in women with malnutrition (by 21.1%) and prolonged psycho-emotional stress (by 40.4%) with no significant changes in the subgroups with prolonged physical exertion and leading an unhealthy lifestyle. In the 3rd study group, a decrease in the content of progesterone in women in the 1st phase of the menstrual cycle was observed in all subjects: in women with malnutrition (by 37.2%), prolonged physical exertion (by 23.1%), prolonged psycho-emotional stress (by 59.6%), and those leading an unhealthy lifestyle (by 23.1%). Accordingly, in the

4th study group: progesterone content decreased in the insufficient nutrition subgroup by 56.9%, in long-term physical exertion subgroup – by 34.6%, in prolonged psycho-emotional stress subgroup – by 71.2%, in unhealthy lifestyle subgroup – by 42.3%.

A similar picture was also observed for the content of estradiol and progesterone in the 2nd phase of the menstrual cycle, although the changes in the content of progesterone were more clearly expressed while maintaining the above-described regularity. The emerging deficiency of estradiol and progesterone was noted in the 1st study group in women with malnutrition, which amounted to 13.6% and 29.2%, respectively, vs. women in the control group.

When studying the content of follicle-stimulating hormone in the 1st phase of the menstrual cycle, a decrease in the content of this hormone by 22.6% in the 1st study group in women with prolonged psycho-emotional stress ($p < 0.05$) was observed, while there were no significant difference in other subgroups compared with the controls. In the 2nd study group, a significant decrease in the content of follicle-stimulating hormone was observed in women with malnutrition and long-term psycho-emotional stress ($p < 0.05$). At the same time, in women of the 3rd study group, a decrease in the content of follicle-stimulating hormone was as follows: insufficient nutrition subgroup – by 31.4%, prolonged physical exertion subgroup – by 22.8%, prolonged psycho-emotional stress subgroup – by 46.5%, unhealthy lifestyle subgroup – by 14.3%. In the 4th study group, the content of follicle-stimulating hormone decreased in women with malnutrition by 40.6%, in women with prolonged physical exertion – by 30.5%, in women with long-term psycho-emotional stress – by 56.6% and in women with unhealthy lifestyle – by 22.6%.

The study of luteinizing hormone content in the 1st phase of the menstrual cycle showed a significant ($p < 0.05$) decrease by 24.7% in the 1st study group in patients with prolonged psycho-emotional stress vs. women in the control group, with no significant difference in other study subgroups. In the 2nd study group, the content of luteinizing hormone was significantly lower ($p < 0.05$) in women with malnutrition and prolonged psycho-emotional stress. In the 3rd study group, the content of luteinizing hormone in the subgroup of women with malnutrition decreased by 34.8% ($p < 0.05$), with long-term physical exertion – by 23.3%

($p < 0.05$), with long-term psycho-emotional stress – by 50.3% ($p < 0.05$), with unhealthy lifestyle – by 21.2%; in the 4th study group, the values decreased by 45.1%, 35.1%, 66.5%, 30.0%, respectively.

A similar picture was observed for the content of follicle-stimulating and luteinizing hormone in the 2nd phase of the menstrual cycle.

The study of cortisol content, depending on the cause and degree of body weight deficiency showed that in the 1st study group, a significant ($p < 0.05$) increase in the content of cortisol was found only in the subgroup of women with long-term psycho-emotional stress. At the same time, in the 2nd study group, there was an increase in the content of cortisol by 18.1% in women with malnutrition and by 21.9% in women with long-term psycho-emotional stress. In the 3rd study group, the cortisol content increased in the subgroup with insufficient nutrition – by 21.9%, with prolonged physical exertion – by 9.7%, with prolonged psycho-emotional stress – by 25.8%, with unhealthy lifestyle – by 8.4%; while in the 4th study group, the content of cortisol increased by 24.6%, 14.6%, 46.8%, 10.1%, respectively.

The study of prolactin content in women in the 1st phase of the menstrual cycle showed that in the 1st study group, a significant ($p < 0.05$) increase in the content of prolactin was observed only in the subgroup of women with long-term psycho-emotional stress.

In the 2nd study group, there was an increase in prolactin content by 19.8% in women with malnutrition and by 31.9% in women with prolonged psycho-emotional stress. In the 3rd study group, the prolactin content increased in the subgroup with insufficient nutrition by 17.9%, with prolonged physical exertion – by 39.7%, with prolonged psycho-emotional stress – by 42.8%, with unhealthy lifestyle – by 7.4%; in the 4th study group, the prolactin content increased by 12.6%, 11.7%, 42.1%, 12.2%, respectively.

Thus, a relationship was found between underweight and changes in hormone levels that influenced infertility in marriage (when other factors of infertility were excluded). When studying the causal relationship between a decrease in body weight and hormone level abnormalities, it was shown that the most important factor that changed the level of hormones in the body was a causal relationship that caused weight loss. The study can be used to develop an algorithm for the treatment of such patients together with a psychotherapist and nutritionist.

Conclusions/Висновки

In women with varying degrees of body weight deficiency, hormonal changes are observed, aggravated with the severity of metabolic disorders, and are a reflection of internal homeostasis disorder. The most important factor affecting pathological processes in the body is the causal

relationship that causes weight loss. The most significant factors are prolonged psycho-emotional stress and malnutrition, while long-term physical exertion and unhealthy lifestyle are milder predisposing causes leading to changes in homeostasis.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research are related to the study of the effectiveness of psychotherapeutic effects on hormone levels.

References/Список літератури

1. Kaigorodtsev, L.N. Smelysheva, E.A. Musikhina, N.A. Arsenian. [Stress-induced hormonal indicators of reproductive function in healthy girls with different body mass index]. *Chelovek. Sport. Medicina*. 2018;18(4):35-41.
2. Denisova TG, Gerasimova IN, Grusinova EN. [Features of the reproductive function of women with underweight]. *Prakticheskaya medizina*. 2014;5:53–57.
3. Zelinskiy OO, Andrievskiy AG, Gromanchuk SP. [Features of health and reproductive function in women with a deficit of body weight of exogenous origin]. *Odeskij medichnij jurnal*. 2015;2(88):60-64.
4. Nazarenko TA. *Endokrinnie faktory gendernogo i mugskogo besplodiya. Principy gormonalnogo lecheniya* [Endocrine factors of female and male infertility. Principles of hormonal treatment]. MIA Publisher, 2017.132p
5. Pyrogo VI, Tatarchuk TF. [The impact of endocrine disorders on the realization of women's reproductive function: what help is possible?]. *Akusherstvo. Ginrkologiya. Reproductologia*. 2020; 2(38):27-34.
6. Gardner D, Shobek D. *Basisnaja i klinicheskaya endokrinologija* [Basic and clinical endocrinology]. Publisher BINOM. 2017; 464 p
7. Makarchuk MO, Dziombak AB. [Particularities of reproductive potential in women because of impairment and development of menstrual function in anamnesis from medical history]. *Aktualni putannya pediatrii, akusherstva ta ginekologii*. 2017;2:34-42. doi: 10.11603/24116-4944.2017.2.8046
8. Morrison AE, Fleming S, Levy MJ. A review of the pathophysiology of functional hypothalamic amenorrhoea in women subject to psychological stress, disordered eating, excessive exercise or a combination of these factors. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2021;95(2):229-238. doi: 10.1111/cen.14399
9. Kyriakidis M, Caetano L, Anastasiadou N, Karasu T, Lashen H. Functional Hypothalamic Amenorrhoea: Leptin Treatment, Dietary Intervention and Counselling as Alternatives to Traditional Practice-Systematic Review. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol*. 2016;198:131–137. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.01.018
10. Williams NI, Leidy HJ, Hill BR, Lieberman JL, Legro RJ, De Souza M.J. Magnitude of daily energy deficit predicts frequency but not severity of menstrual disturbances associated with exercise and caloric restriction. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2015;89:308-317. doi: 10.1152/ajpendo.00386.2013
11. Huhmann K. Menses Requires Energy: a review of how disordered eating, excessive exercise, and high stress lead to menstrual irregularities. *Clin. Ther*. 2020;42:401–407. DOI: 10.1016/j.clinthera.2020.01.016
12. Watrowski R, Rohde A, Maciejewska-Jeske M, Meczekalski B. Hormonal and psychosocial correlates of psychological well-being and negative affectivity in young gynecological-endocrinological patients. *Gynecol. Endocrinol*. 2016;32:21–28. DOI: 10.3109/09513590.2015.1062869
13. Reed JL, De Souza MJ, Mallinson RJ, Scheid JL, Williams NI. Energy Availability Discriminates Clinical Menstrual Status in Exercising Women. *J. Int. Soc. Sports*



Nutr. 2015;12:14-21. DOI: 10.1186/s12970-015-0072-0

14. Gibbs JC, Williams NI, Scheid JL, Toombs RJ, De Souza MJ. The association of a high drive for thinness with energy deficiency and severe menstrual disturbances: confirmation in a large population of

exercising women. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2011;21:280–90.

DOI: 10.1123/ijsnem.21.4.280

(received 01.12.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 01.12.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Бойко Володимир Іванович, д.м.н., професор, завідувач кафедри акушерства гінекології та планування сім'ї, gin@med.sumdu.edu.ua

Сухарєв Анатолій Борисович, к.м.н., доцент кафедри акушерства гінекології та планування сім'ї, тел. +380(95)119-74-75 zalivna7308@gmail.com

Копиця Тетяна Володимирівна, к.м.н., асистент кафедри акушерства гінекології та планування сім'ї, тел. +380(50)160-18-67 t.kopica@med.sumdu.edu.ua

Abstract

**Olha I. Zalyubovska,
Valeriya V. Hryshchenko,**

*Department of Clinical Laboratory
Diagnostics, Kharkiv National
Medical University, Kharkiv,
Ukraine*

**ANALYSIS OF THE STATE OF PLATELET AGGREGATION IN
PREGNANT WOMEN WITH THROMBOPHILIA AND
BURDENED OBSTETRIC HISTORY**

The analysis of platelet aggregation in pregnant women with thrombophilia and burdened obstetric history was performed. It has been determined that the development of adverse effects of pregnancy is significantly influenced by conditions such as placental abruption, fetal growth retardation, preeclampsia and fetal death, which are provoked by an abnormal vascular network of the placenta and hemostasis disorders caused by various thromboembolic disorders due to thrombophilia. Therefore, in recent years, the problem of thrombophilia has attracted much attention as a risk factor for pregnancy complications caused by various thromboembolic disorders, which are responsible for preeclampsia, fetoplacental insufficiency, fetal growth retardation and fetal loss, and others.

Given the above, the aim of the work was to analyze the state of platelet aggregation of pregnant women with thrombophilia and burdened obstetric history.

To achieve this goal, a study of pregnant women with thrombophilia and burdened obstetric history was conducted: 137 pregnant women, which were divided into two study groups – the main group, which included 101 pregnant women with a burdened obstetric history and thrombophilia, and the control group, which included 36 pregnant women with a burdened obstetric history without thrombophilia.

The analysis of platelet aggregation of pregnant women with thrombophilia and burdened obstetric history was performed. It was found that the degree of platelet aggregation with the addition of an inducer of adenosine diphosphate at a concentration of 0.0625 prevailed in the control group as compared with pregnant women with thrombophilia (26.3 [24.3; 28.4] % and 21.4 [14.6; 31.1] % in contrast to the aggregation time and its speed (which were lower in the controls (58.0 [54.0; 72.0] s and 22.9 [20.4; 24.9] min) as compared with the main group (71.0 [48.0; 530.5] s) (and 26.5 [14.5; 38.3] min)). It was found that at a concentration of adenosine diphosphate of 0.125, all indicators of platelet aggregation prevailed in the main group (degree of aggregation (35.4 [25.6; 52.5] %; $U = 1236.0$; $p = 0.004$), its time (115.0 [47.0; 324.0] s; $U = 1623.5$; $p = 0.341$) and speed (45.2 [32.1; 57.5] min; $U = 968.5$; $p < 0.001$) compared to the controls (30.1 [26.7; 31.2] %, 84.0 [78.0; 103.5] s and 26.4 [30.4; 35.8] min). It was determined that the concentration of adenosine diphosphate of 0.250 caused an increase in the aggregation time

in the control group as compared to the main group (225.5 [196.5; 269.3] s and 181.0 [57.0; 347.0] s; $U = 1554.5$; $p = 0.198$) in contrast to the degree [43.3 [39.6; 48.8] % and 51.1 [35.4; 63.8] %; $U = 1417.0$; $p = 0.050$) and aggregation rates (57.8 [42.8; 67.0] min and 40.1 [34.4; 47.9] min; $U = 786.5$; $p < 0.001$). It was also found that the maximum concentration of adenosine diphosphate (0.500) caused a significant ($U = 11178.0$; $p = 0.002$) increase in the aggregation time in the controls (329.0 [269.5; 390.0] s) compared to the main group (211.0 [72.5; 381.0] s) in contrast to the degree and rate of aggregation [51.9 [50.1; 54.3] %; $U = 1606.5$; $p = 0.300$ and 42.7 [38.8; 49.4] min; $U = 923.5$; $p < 0.001$ and 55.1 [38.6; 69.0] % and 63.6 [44.7; 72.6] min).

Keywords: pregnant women, burdened obstetric history, thrombophilia, platelet aggregation, ADP inducer.

Corresponding author:

Valeriya V. Hryshchenko, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine
e-mail: alex_mischenko1976@ukr.net

Резюме

Ольга І. Залюбовська,
Валерія В. Грищенко,

*Кафедра клінічної лабораторної
діагностики, Харківський національний
медичний університет,
м. Харків, Україна*

АНАЛІЗ СТАНУ АГРЕГАЦІЇ ТРОМБОЦИТІВ ВАГІТНИХ ІЗ ТРОМБОФІЛІЯМИ ТА ОБТЯЖЕНИМ АКУШЕРСЬКИМ АНАМНЕЗОМ

В роботі проведено аналіз стану агрегації тромбоцитів вагітних жінок із тромбофіліями та обтяженим акушерським анамнезом. Було визначено, що на розвиток негативних наслідків вагітності значно впливають такі стани, як відшарування плаценти, затримка внутрішньоутробного розвитку плоду, прееклампсія та внутрішньоутробна загибель плода; які цілковито провокуються аномальною судинною мережею плаценти і порушеннями гемостазу, що викликані різноманітними тромбоемболічними розладами через тромбофілію. Тому, останніми роками проблема тромбофілій привертає велику увагу фахівців як фактор ризику розвитку ускладнень вагітності, що спровоковані різноманітними тромбоемболічними розладами, які відповідальні за прееклампсію, фетоплацентарну недостатність, затримку внутрішньоутробного розвитку плоду та його втрату й інше.

З огляду на вищевказане, метою роботи постало проведення аналізу стану агрегації тромбоцитів вагітних жінок із тромбофілією та обтяженим акушерським анамнезом.

Для досягнення мети роботи було проведено дослідження вагітних жінок із тромбофілією та обтяженим акушерським анамнезом: 137 вагітних жінок, яких було розподілено на дві досліджувані групи: основну, у яку увійшла 101 вагітна жінка з обтяженим акушерським анамнезом і тромбофілією і контрольну, до якої було віднесено 36 вагітних жінок із обтяженим акушерським анамнезом без тромбофілії.

За результатами роботи вірогідно ($U = 1429.5$; $p = 0.057$) було встановлено, що ступінь агрегації тромбоцитів за додавання індуктору аденозиндифосфату концентрацією 0,0625 переважав в контролі порівняно з вагітними з тромбофілією (26,3 [24,3; 28,4] % та 21,4 [14,6; 31,1] % на відміну від часу агрегації та її швидкості (нижчі в контролі (58,0 [54,0; 72,0] с та 22,9 [20,4; 24,9] хв.) порівняно з основною групою (71,0 [48,0; 530,5] с та 26,5 [14,5; 38,3] хв.)). Було

констатовано, що при концентрації аденозиндифосфату 0,125 всі показники агрегації тромбоцитів переважали в основній групі (ступінь агрегації (35,4 [25,6; 52,5] %; $U = 1236,0$; $p = 0,004$), її час (115,0 [47,0; 324,0] с; $U = 1623,5$; $p = 0,341$) та швидкість (45,2 [32,1; 57,5] хв.; $U = 968,5$; $p < 0,001$) порівняно з контролем (30,1 [26,7; 31,2] %, 84,0 [78,0; 103,5] с і 26,4 [30,4; 35,8] хв.). Було визначено, що концентрація аденозиндифосфату 0,250 викликала перевагу часу агрегації в групі контролю порівняно з основною (225,5 [196,5; 269,3] с і 181,0 [57,0; 347,0] с; $U = 1554,5$; $p = 0,198$) на відміну від ступеня (43,3 [39,6; 48,8] % і 51,1 [35,4; 63,8] %; $U = 1417,0$; $p = 0,050$) та швидкості (57,8 [42,8; 67,0] хв. й 40,1 [34,4; 47,9] хв.; $U = 786,5$; $p < 0,001$) агрегації. Також було з'ясовано, що максимальна концентрація аденозиндифосфату (0,500) викликала вірогідне ($U = 11178,0$; $p = 0,002$) переважання часу агрегації в контролі (329,0 [269,5; 390,0] с) порівняно з основною (211,0 [72,5; 381,0] с) групою на відміну від ступеня та швидкості агрегації (відповідно 51,9 [50,1; 54,3] %; $U = 1606,5$; $p = 0,300$ та 42,7 [38,8; 49,4] хв.; $U = 923,5$; $p < 0,001$ й 55,1 [38,6; 69,0] % і 63,6 [44,7; 72,6] хв.).

Ключові слова: вагітні жінки, обтяжений акушерський анамнез, тромбофілії, агрегація тромбоцитів, індуктор АДФ.

Автор, відповідальний за листування:

Валерія В. Грищенко, кафедра клінічної лабораторної діагностики, Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна
e-mail: alex_mischenko1976@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Zalyubovska OI, Hryshchenko VV. [Analysis of the state of platelet aggregation in pregnant women with thrombophilia and burdened obstetric history]. *EUMJ*. 2021;9(4):416-422
DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):416-422](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):416-422)

Introduction/Вступ

Проблема невиношування вагітності є досить нагальною для багатьох світових науковців. На негативні наслідки вагітності значно впливають такі стани, як відшарування плаценти, затримка внутрішньоутробного розвитку плоду, прееклампсія та внутрішньоутробна загибель плода; які цілковито провокуються аномальною судинною мережею плаценти і порушеннями гемостазу [1], що викликані різноманітними тромбоемболічними розладами через тромбофілію (ТФ). Тому, останніми роками ТФ привертає велику увагу фахівців як фактор ризику розвитку ускладнень вагітності. [2–5], що спровоковані різноманітними тромбоемболічними розладами, які відповідальні за прееклампсію, фетоплацентарну недостатність, затримку внутрішньоутробного розвитку плоду та його втрату й інш. [6–9]. На сьогодні вже доведено вірогідний взаємозв'язок між антифосфоліпідними антитілами та втратою вагітності, але, переконливих даних щодо інших факторів ризику розвитку тромбозу менш достатньо. Вчені при-

пускають взаємозв'язок тромбозу з дефіцитом антитромбіну, гіпергомоцистемією та фактором V Лейдена й варіаціями протромбіну G20210A і дефіцитом білка S [1]. За припущеннями науковців, близько 65,0 % усіх випадків негативних наслідків вагітності у вигляді затримки внутрішньоутробного розвитку плоду, прееклампсій і відшарувань плаценти провокуються ТФ [4, 10], а 60,0 % таких наслідків спровоковані спадковою ТФ і викликаними нею ідеопатичними тромбоемболічними випадками [6], через що при наявності у вагітних ТФ їх відносять до групи підвищеного ризику [11].

Усі ТФ спровоковані спадковими та набутими станами, що викликають різноманітні тромбоемболічні розлади. Набуті стани мають незначну поширеність (по 3,0 % хворих із дефіцитом SC білку та анти тромбіну); а спадкові частіш за все визначаються трьома основними причинами: стійкість до активованого протеїну С через мутацію аденін-506-гуаніну (A506G) в факторі V Лейдена (20,0–30,0 % усіх випадків венозної тромбоемболії), мутація гуаніну 20210

аденіну (G20210A) в протромбіну, гомозиготність мутації цитозину 677 тиміну (C677T) в метіленetetрагідролатредуктазі (MTHFR) [3, 7, 12–14]. Спадкові тромбофілії в результаті призводять до зниження продукування білків системи гемостазу або їх функцій [15].

Спадкові тромбофілії, викликані генетичними порушеннями пов'язані зі стимуляцією прокоагулянтної або зниженням антикоагулянтної ланок гемостазу [5, 6, 14, 15]. Вищезазначені ТФ відносяться до групи так званих первинних ТФ, а до вторинних відносять ТФ, викликані онкологічною патологією та терапією оральними контрацептивами, гепарин-індуковану тромбоцитопенію, антифосфоліпідний синдром і таке інше [16].

Матеріали та методи дослідження. При проведенні аналізу стану агрегації тромбоцитів (АТ) вагітних жінок із ТФ та обтяженим акушерським анамнезом усіх обстежених (137 вагітних жінок) було розподілено на дві досліджувані групи: основну (ОГ), у яку увійшла 101 вагітна жінка з обтяженим акушерським анамнезом і ТФ і контрольну (КГ), до якої було віднесено 36 вагітних жінок із обтяженим акушерським анамнезом без ТФ.

ОГ склали жінки з анамнестично визначеним синдромом втрати плода (один та більше самовільних викиднів після 10 тижнів вагітності, включаючи вагітність, що не розвивається); антенатальною чи неонатальною смертю плода (як ускладнення передчасних пологів, пізнього гестозу (пreeклампсії) або плацентарних порушень); три чи більше мимовільних викиднів на преембріональній (ранній ембріональній) стадії, при відсутності будь-яких причин невиношування вагітності та наявністю діагностованої генетично детермінованої чи набутої форми ТФ і обтяженого родинного тромбоцитного анамнезу. Діагноз ТФ визначали за допомогою лабораторних критеріїв (спадкові тромбофілії за дослідженням поліморфізму генів фолатного циклу: MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G; діагностичні критерії антифосфоліпідного синдрому: присутність вовчукового антикоагулянта; IgG чи М до кардіоліпіну (більше за 40 MPL/мл чи за 99-й перцентиль порівняно з нормою), до β_2 -глікопротеїну І (більше за 99-й перцентиль порівняно з нормою). Для встановлення діагнозу ТФ було достатньо 1-го клінічного та 1-го лабораторного критеріїв.

Ступінь, час та швидкість АТ проводили за допомогою спеціального індуктора агрегації –

АДФ концентрацією 0,625; 1,25; 2,5 та 5,0 мкмоль/л. При визначенні агрегаційної активності тромбоцитів використовували набір реагентів фірми «Гранум» (м. Харків) та 4-х каналний коагулометр-агрегометр SC-40 фірми «Steellex» (Китай). Для проведення аналізу кров збирали з ліктьової вени в дві пластикові пробірки з 3,2 % розчину цитрату натрію із співвідношенням об'ємів крові і цитрату 9:1. Першу пробірку центрифугували при 1000 об/хв. протягом 5 хв., а другу – при 3000–4000 об/хв. протягом 15 хв. Після проводили визначення на 4-х каналному коагулометр-агрегометрі SC-40 фірми «Steellex» (Китай).

Медико-статистичний аналіз отриманих даних було проведено за допомогою пакета прикладних програм: Microsoft Excel 2013, Statsoft Statistica 10.0 для Windows. Розподіл кількісних ознак виконано за допомогою критерію Колмогорова–Смірнова та Ліліфорса (Kolmogorov–Smirnov & Lilliefors test for normality) й Шапіро–Уїлка (Shapiro–Wilk's test of normality). За отриманими результатами виявлено значні відмінності від нормального характеру розподілу, тому подальші розрахунки проведено за допомогою непараметричних медико-статистичних методів.

Отримані кількісні характеристики нами представлено у вигляді: медіана та нижня та верхня границі зустрічаємості ознаки (Me [LQ; UQ]). Вірогідність відмінностей отриманих кількісних ознак в двох взаємозалежних групах визначали за допомогою U-тесту Мана–Уїтні (Mann–Whitney U-test). Порогова величина рівня вірогідності усіх розрахованих ознак була прийнята за 0,05 ($p = 0,05$) з визначенням точного значення рівня достовірності «р» із трьома знаками після коми.

Результати дослідження. За отриманими результатами стану АТ вагітних із ТФ та обтяженим акушерським анамнезом (табл. 1) було визначено, що ступінь АТ за додавання індуктору аденозиндифосфату (АДФ) 0,0625 на межі вірогідності ($U = 1429,5$; $p = 0,057$) мала тенденцію переважання в КГ вагітних жінок порівняно з ОГ: відповідно 26,3 [24,3; 28,4] % та 21,4 [14,6; 31,1] %. При цьому, медіанний час настання агрегації та її швидкість були нижчими в групі контролю ніж серед жінок ОГ: відповідно 58,0 [54,0; 72,0] с та 71,0 [48,0; 530,5] с і 22,9 [20,4; 24,9] хв. та 26,5 [14,5; 38,3] хв. Отриманні значення мали рівень тенденції ($U = 1469,0$; $p = 0,088$ та $U = 1683,0$; $p = 0,564$) – табл. 1.

Таблиця 1– Характеристика показників АТ серед обстежених вагітних жінок із обтяженим акушерським анамнезом (Me [LQ; UQ])

АТ	КГ, n = 36	ОГ, n = 101	U	p
Індуктор АДФ 0,0625				
Ступінь, %	26,3 [24,3; 28,4]	21,4 [14,6; 31,1]	1429,5	0,057
Час, с	58,0 [54,0; 72,0]	71,0 [48,0; 530,5]	1469,0	0,088
Швидкість, хв.	22,9 [20,4; 24,9]	26,5 [14,5; 38,3]	1683,0	0,564
Індуктор АДФ 0,125				
Ступінь, %	30,1 [26,7;31,2]	35,4 [25,6; 52,5]	1236,0	0,004
Час, с	84,0 [78,0; 103,5]	115,0 [47,0; 324,0]	1623,5	0,341
Швидкість, хв.	26,4 [30,4; 35,8]	45,2 [32,1; 57,5]	968,5	< 0,001
Індуктор АДФ 0,250				
Ступінь, %	43,3 [39,6; 48,8]	51,1 [35,4; 63,8]	1417,0	0,050
Час, с	225,5 [196,5; 269,3]	181,0 [57,0; 347,0]	1554,5	0,198
Швидкість, хв.	40,1 [34,4; 47,9]	57,8 [42,8; 67,0]	786,5	< 0,001
Індуктор АДФ 0,500				
Ступінь, %	51,9 [50,1; 54,3]	55,1 [38,6; 69,0]	1606,0	0,300
Час, с	329,0 [269,5; 390,0]	211,0 [72,5; 381,0]	1178,0	0,002
Швидкість, хв.	42,7 [38,8; 49,4]	63,6 [44,7; 72,6]	923,5	< 0,001

При збільшенні концентрації індуктору АДФ в обох групах відмічалася й збільшення показників АТ (ступеня, часу та швидкості) з деякими змінами тенденцій їх різниці між КГ та ОГ. Так, при концентрації АДФ 0,125 усі показники АТ переважали в ОГ: вірогідно ($U = 1236,0$; $p = 0,004$) ступінь АТ (35,4 [25,6; 52,5] %) та ($U = 968,5$; $p < 0,001$) швидкість (45,2 [32,1; 57,5] хв.) і на рівні тенденцій ($U = 1623,5$; $p = 0,341$) час агрегації (115,0 [47,0; 324,0] с) порівняно з КГ: відповідно 30,1 [26,7;31,2] %; 84,0 [78,0; 103,5] с та 26,4 [30,4; 35,8] хв. – табл. 1.

Слід вказати, що зі збільшенням концентрації індуктора АДФ до 0,250 в групі контролю невірогідно ($U = 1554,5$; $p = 0,198$) став переважати час АТ (225,5 [196,5; 269,3] с) порівно з групою жінок із ТФ (181,0 [57,0; 347,0] с). Показники ж ступеня та швидкості агрегації вірогідно (відповідно $U = 1417,0$; $p = 0,050$ і $U = 786,5$; $p < 0,001$) переважали в ОГ (відповідно 51,1 [35,4; 63,8] % та 57,8 [42,8; 67,0] хв.) порівняно з контролем (відповідно 43,3 [39,6; 48,8] % й 40,1 [34,4; 47,9] хв.) – табл. 1.

При максимальній концентрації АДФ у дослідженні (0,500) тенденції щодо переважання часу АТ в КГ повторювали результати, отримані при концентрації індуктора АДФ 0,250. Так, вірогідно ($U = 11178,0$; $p = 0,002$) час АТ в КГ

склав 329,0 [269,5; 390,0] с. порівняно з ОГ (211,0 [72,5; 381,0] с); а медіанні рівні ступеня та швидкості в КГ були нижчими (відповідно 51,9 [50,1; 54,3] %; $U = 1606,5$; $p = 0,300$ та 42,7 [38,8; 49,4] хв.; $U = 923,5$; $p < 0,001$) на відміну від ОГ (відповідно 55,1 [38,6; 69,0] % й 63,6 [44,7; 72,6] хв.) – табл. 1.

Обговорення отриманих результатів. Отримані нами результати цілком підтверджуються й дослідженнями інших вчених, які дослідили вагітних з неускладненим перебігом гестаційного періоду та пологів без морфологічних ознак плацентарної дисфункції й групу пацієнток з ускладненим перебігом вагітності з порушеннями плодово-плацентарних взаємовідносин через тромболітичні розлади та встановили переважання рівня АДФ-індукованої АТ в групі з порушеннями плодово-плацентарних взаємовідносин. Причому, в підгрупі з загрозою переривання вагітності та передчасних пологів ці рівні вірогідно ($p < 0,05$) переважали порівняно з підгрупою вагітних з ознаками прееклампсії різного ступеня тяжкості та підгрупою вагітних з клініко-морфологічними ознаками плацентарної дисфункції (відповідно $126,3 \pm 14,8$ %; $124,9 \pm 17,2$ % і $94,5 \pm 21,4$ %) та значно вірогідно ($p < 0,05$) переважали показники контрольної групи ($176,75 \pm 32,96$ %) [17].

Conclusions/Висновки

Таким чином при проведенні аналізу стану АТ вагітних жінок із ТФ та обтяженим акушерським анамнезом:

1. Вірогідно ($U = 1429,5$; $p = 0,057$) встановлено, що ступінь агрегації тромбоцитів за додавання індуктору аденозиндифосфату концентрацією 0,0625 переважав в контролі порівняно з вагітними з тромбофілією (26,3 [24,3; 28,4] % та 21,4 [14,6; 31,1] % на відміну від часу агрегації та її швидкості (нижчі в контролі (58,0 [54,0; 72,0] с та 22,9 [20,4; 24,9] хв.) порівняно з основною групою (71,0 [48,0; 530,5] с та 26,5 [14,5; 38,3] хв.)).

2. Констатовано, що при концентрації аденозиндифосфату 0,125 всі показники агрегації тромбоцитів переважали в основній групі (ступінь агрегації (35,4 [25,6; 52,5] %; $U = 1236,0$; $p = 0,004$), її час (115,0 [47,0; 324,0] с; $U = 1623,5$; $p = 0,341$) та швидкість (45,2 [32,1; 57,5] хв.; $U =$

968,5; $p < 0,001$) порівняно з контролем (30,1 [26,7; 31,2] %, 84,0 [78,0; 103,5] с і 26,4 [30,4; 35,8] хв.).

3. Визначено, що концентрація аденозиндифосфату 0,250 викликала перевагу часу агрегації в групі контролю порівняно з основною (225,5 [196,5; 269,3] с і 181,0 [57,0; 347,0] с; $U = 1554,5$; $p = 0,198$) на відміну від ступеня (43,3 [39,6; 48,8] % і 51,1 [35,4; 63,8] %; $U = 1417,0$; $p = 0,050$) та швидкості (57,8 [42,8; 67,0] хв. й 40,1 [34,4; 47,9] хв.; $U = 786,5$; $p < 0,001$) агрегації.

4. З'ясовано, що максимальна концентрація аденозиндифосфату (0,500) викликала вірогідне ($U = 11178,0$; $p = 0,002$) переважання часу агрегації в контролі (329,0 [269,5; 390,0] с) порівняно з основною (211,0 [72,5; 381,0] с) групою на відміну від ступеня та швидкості агрегації (відповідно 51,9 [50,1; 54,3] %; $U = 1606,5$; $p = 0,300$ та 42,7 [38,8; 49,4] хв.; $U = 923,5$; $p < 0,001$ й 55,1 [38,6; 69,0] % і 63,6 [44,7; 72,6] хв.).

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

В подальших дослідженнях планується провести визначення клініко-анамнестичних характеристик та медикаментозного супроводу вагітних жінок із обтяженим акушерським анамнезом і ТФ.

References/Список літератури

1. Pabinger I. Thrombophilia and its impact on pregnancy. *Thrombosis Research*. 2009;123(3):S16–S21. doi: [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(09\)70128-8](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(09)70128-8)
2. Akinshina S, Makatsariya A, Bitsadze V et al. Thromboprophylaxis in pregnant women with thrombophilia and a history of thrombosis. *J Perinat Med*. 2018;46(8):893–899. doi: 10.1515/jpm-2017-0329
3. Croles FN, Nasserinejad K, Duvekot JJ et al. Pregnancy, thrombophilia, and the risk of a first venous thrombosis: systematic review and bayesian meta-analysis. *BMJ*. 2017;359:j4452. doi: 10.1136/bmj.j4452
4. Yang W, Sun Q, Zhou Z et al. Comparison of 2 approaches in management of pregnant women with inherited thrombophilias: Prospective analytical cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(34):e16883. doi: 10.1097/MD.00000000000016883
5. Linnikov V, Linnikov S. [Thrombophilia as a key to the pathogenesis of accelerated obstetrics and gynecology]. Science and education. 2019;3:31–36. doi: 10.24195/2414-4665-2019-3-5 (In Ukrainian).
6. Trasca LF, Patrascu N, Bruja R et al. Therapeutic Implications of Inherited Thrombophilia in Pregnancy. *Am. J. Ther*. 2019;26(3):e364–e374. doi: 10.1097/MJT.0000000000000985
7. Dłuski D, Mierzyński R, Poniedziałek-Czajkowska E, Leszczyńska-Gorzela B. Adverse pregnancy outcomes and inherited thrombophilia. *J. Perinat. Med*. 2018;46(4):411–417. doi: 10.1515/jpm-2017-0059
8. Baptista FS, de Figueiredo Lemos Bortolotto MR, Marim Bianchini FR et al. Can thrombophilia worsen maternal and perinatal outcomes in cases of severe preeclampsia? *Pregnancy Hypertens*. 2018;11:81–86. doi: 10.1016/j.preghy.2017.12.012
9. Bao SH, Chigirin N, Hoch V et al. Uterine Radial Artery Resistance Index Predicts Reproductive Outcome in Women with Recurrent Pregnancy Losses and Thrombophilia. *Biomed. Res. Int*. 2019;2019:8787010. doi: 10.1155/2019/8787010
10. Dugalić S, Petronijević M, Stefanovic A et al. The association between IUGR and maternal



- inherited thrombophilias: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(41):e12799. doi: 10.1097/MD.00000000000012799
11. Dargaud Y, Rugeri L, Fleury C et al. Personalized thromboprophylaxis using a risk score for the management of pregnancies with high risk of thrombosis: a prospective clinical study. *J. Thromb. Haemost.* 2017;15(5):897–906. doi: 10.1111/jth.13660
12. Nahas R, Saliba W, Elias A, Elias M. The Prevalence of Thrombophilia in Women With Recurrent Fetal Loss and Outcome of Anticoagulation Therapy for the Prevention of Miscarriages. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2018;24(1):122–128. doi: 10.1177/1076029616675967
13. Hotoleanu C. Genetic Risk Factors in Venous Thromboembolism. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;906:253–272. doi: 10.1007/5584_2016_120
14. Yu-Min S, Tsai J, Taiwo E et al. Analysis of Thrombophilia Test Ordering Practices at an Academic Center: A Proposal for Appropriate Testing to Reduce Harm and Cost. *Plos One*. 2016;11(5):e0155326. doi: 10.1371/journal.pone.0155326
15. Stevens SM, Woller SC, Bauer KA et al. Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2016;41(1):154–164. doi: 10.1007/s11239-015-1316-1
16. Dautaj A, Krasi G, Bushati V et al. Hereditary thrombophilia. *Acta Biomed.* 2019;90(10-S):44–46. doi: 10.23750/abm.v90i10-S.8758.
17. Mel'nik YUM, ZHuk SI, Atamanchuk IM. [Endothelial dysfunction as a marker of placental insufficiency]. *Woman's health*. 2016;9(115):47–51. (In Ukrainian).

(received 02.12.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 02.12.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Information about the authors/Відомості про авторів

Залюбовська Ольга Іллівна – завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики, доктор медичних наук, професор, Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

Грищенко Валерія Володимирівна – аспірант кафедри клінічної лабораторної діагностики, Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

Тел. +380955334024

alex_mischenko1976@ukr.net



Abstract

Oksana S. Khukhlina,
Zoriana Ya. Kotsyubiychuk,
Aliona A. Antoniv,
*Department of Internal Medicine,
Clinical Pharmacology and
Occupational Diseases, Bukovinian
State Medical University,
Chernivtsi, Ukraine*

INTENSITY OF OXIDATIVE STRESS AS A UNIVERSAL MECHANISM OF TISSUE DAMAGE IN NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS AND DIABETIC KIDNEY DISEASE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS. QUERCETIN CORRECTION EFFECTIVENESS

The objective of the research was to determine the intensity of the effect of a complex of Metformin, Rosuvastatin, Essentiale Forte N and Quercetin on the state of oxidative-antioxidant homeostasis, as well as the intensity of hepatocyte apoptosis by cytokeratin-18 in the blood that are the factors in the progression of nonalcoholic steatohepatitis and diabetic kidney disease.

Material and methods. 75 patients with non-alcoholic steatohepatitis with type 2 diabetes mellitus and stage I–III diabetic kidney disease were studied over time. According to the prescribed treatment, the examined patients were divided into 2 groups: (group 1 – the controls: 37 patients) received a low-calorie diet with dietary restrictions No.9, essential phospholipids (Essentiale forte H 300 mg 2 caps. 3 times a day) for 30 days for the treatment of active non-alcoholic steatohepatitis, Metformin Hydrochloride (Metformin-Teva) 1000 mg per day, Rosuvastatin (Rosuvastatin-Teva 5 mg once daily) for 1 month for concomitant type 2 diabetes mellitus and hyperlipidemia. Group 2 consisted of patients (38 people) who in addition to similar dietary recommendations and therapy received additionally Quercetin and Povidone (Corvutin) 500 mg intravenously per 100 ml of isotonic chloride for 10 days.

Results. It was found that the comorbid course of nonalcoholic steatohepatitis and diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes mellitus is accompanied by a significant increase in the intensity of oxidative stress, accompanied by an increase in blood intermediate and final products of lipid peroxidation. The damaging effect of oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus leads to the activation of apoptosis of hepatocytes with an increase in blood cytokeratin-18 (7.5 times, $p < 0.05$), the content of which correlates with the degree of oxidative stress, the intensity of liver damage and stage of diabetic kidney disease ($p < 0.05$). Oxidative stress increases the risk of endothelial damage by atherosclerotic process due to hyperproduction of homocysteine (3.9 times, $p < 0.05$), which contributes to the progression of diabetic kidney disease. The use of Quercetin in the complex therapy of non-alcoholic steatohepatitis and type 2 diabetes mellitus with diabetic kidney disease contributes to the reduction of oxidative stress,

increased activity of antioxidant defense factors (content of reduced glutathione in erythrocytes, reduction of cytokeratin-18 content by 1.7 times) and endothelial damage (reduction of homocysteine content in blood by 1.9 times) ($p < 0.05$).

Conclusions. The comorbid course of nonalcoholic steatohepatitis and diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes mellitus is accompanied by a significant increase in the intensity of oxidative stress, and in the content of intermediate and final products of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins ($p < 0.05$).

Keywords: non-alcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes mellitus, diabetic kidney disease, oxidative-antioxidant homeostasis, apoptosis, atherosclerosis, Quercetin.

Corresponding author: Aliona A. Antoniv, Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine
e-mail: antonivalona@ukr.net

Резюме

Оксана С. Хухліна,
Зоряна Я. Коцюбійчук,
Альона А. Антонів,
кафедра внутрішньої медицини,
клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

ІНТЕНСИВНІСТЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ЯК УНІВЕРСАЛЬНОГО МЕХАНІЗМУ ПОШКОДЖЕННЯ ТКАНИН ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОГЕПАТИТІ ТА ДІАБЕТИЧНІЙ ХВОРОБИ НИРОК У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІБЕТ ТИПУ 2. ЕФЕКТИВНІСТЬ КОРЕКЦІЇ КВЕРЦЕТИНОМ

Мета роботи: було з'ясування інтенсивності впливу комплексу засобів метформіну, розувастатіна, Ессенціале форте Н і кверцетину на стан оксидантно-антиоксидантного гомеостазу, а також на інтенсивність апоптозу гепатоцитів за змістом в крові цитокератину-18, які є факторами прогресування неалкогольного стеатогепатиту і діабетичної хвороби нирок.

Матеріали та методи. Проведені дослідження в динаміці лікування у 75 хворих неалкогольного стеатогепатиту з цукровим діабетом типу 2 і діабетичної хвороби нирок І–ІІІ стадії. Згідно призначеного лікування обстежені хворі були розділені на 2 групи: (1 група – контрольна: 37 пацієнтів) отримували гіпокалорійну дієту з урахуванням обмежень дієти № 9, есенціальні фосфоліпіди (Ессенціале форте Н 300 мг по 2 капс. 3 рази на день) 30 днів з метою лікування активного неалкогольного стеатогепатиту, з приводу коморбідного цукрового діабету типу 2 і гіперліпідемії призначали метформіну гідрохлорид (Метформин-Тева) 1000 мг на добу, розувастатин (Розувастатин-Тева 5 мг 1 раз на день) протягом 1 місяця. 2 групу склали пацієнти (38 осіб), які, крім аналогічних дієтичних рекомендацій щодо дієти та лікування, додатково отримували препарат кверцетину і повідону (Корвітин) по 500 мг в 100 мл ізотонічного розчину натрію хлориду в протягом 10 днів.

Результати дослідження. Аналіз отриманих даних показав, що до лікування у хворих обох груп порівняння було встановлено значний мірі оксидативного стресу, який супроводжувався істотним накопиченням в крові проміжних і кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів і окиснювальної модифікації білків. Так, до лікування вміст малонового альдегіду в плазмі крові перевищував референтні значення в 2,1 рази ($p < 0,05$), вміст ізольованих подвійних зв'язків – в 1,9 рази ($p < 0,05$), вміст альдегід-динітро-

фенілгідразонів – в 2,3 рази ($p < 0,05$). У той же час, стан системи антиоксидантного захисту був істотно розбалансований. Так, вміст у крові відновленого глутатіону був нижче показника у практично здорових осіб в 1,7 рази ($p < 0,05$), активність глутатіонпероксидази – була знижена в 1,3 рази ($p < 0,05$), що пояснює високу інтенсивність оксидативного стресу у обстежених хворих. Зазначені продукти перекисного окислення ліпідів і окиснювальної модифікації білків на тлі істотної недостатності системи антиоксидантного захисту привели до активації процесів апоптозу гепатоцитів. Свідченням цього є істотне підвищення вмісту в крові цитокератину-18 у 7,5 рази ($p < 0,05$) в порівнянні з практично здоровими особами.

Висновки. Коморбідний перебіг неалкогольного стеатогепатиту і діабетичної хвороби нирок у хворих на цукровий діабет типу 2 супроводжується істотним зростанням інтенсивності оксидативного стресу, супроводжується зростанням вмісту в крові проміжних і кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів і окиснювальної модифікації білків в межах 1,9–2,3 рази ($p < 0,05$).

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, цукровий діабет типу 2, діабетична хвороба нирок, оксидантно-антиоксидантний гомеостаз, апоптоз, атеросклероз, кверцетин.

Автор, відповідальний за листування: Альона А. Антонів, кафедра внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна
e-mail: antonivalona@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Khukhlina OS, Kotsyubiychuk ZY, Antoniv AA. Intensity oxidative stress as a universal mechanism of tissue damage of nonalcoholic steatohepatitis and diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes mellitus. Quercetin correction effectiveness. *EUMJ*. 2021;9(4):423-431
DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):423-431](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):423-431)

Introduction/Вступ

Every year in Ukraine and the world the incidence of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus (DM2) is significantly increasing [1, 2]. These diseases have a large number of common etio-pathogenetic links and mechanisms of mutual burden. The intensity of damage factors increases with the development of diabetic kidney disease (DKD) [1, 2, 3, 4].

Oxidative stress (OS) occupies a leading place in the mechanisms of progression of NASH and DKD in patients with diabetes mellitus [5, 1, 2, 3]. The increase in the intensity of OS under the influence of various inducers underlies the transformation of nonalcoholic steatosis of the liver into NASH, the development and progression of inflammatory-necrotic changes in the liver in NASH, as well as liver fibrosis [1]. Enhancement of lipid peroxidation (LPO) and oxidative modification of proteins (OMP) of organelle membranes is accompanied by swelling of mitochondria, increased permeability of lysosomal

membranes, systemic disruption of cell membrane integrity [5, 2, 3]. LPO products stimulate collagen formation in the liver and kidneys [1], as well as cause the formation of Mallory cells, which involves the deposition of cross-linked cytokeratin monomers [6, 2]. Accumulation of endotoxins, intermediate and end products of LPO on the background of impaired carbohydrate and lipid metabolism contribute to the induction of cytochrome P450 (Cyp2E1), which is accompanied by the release of large amounts of free radicals of oxygen (FRO) and nitrogen [7]. Increased oxygen consumption by hepatocytes is also accompanied by the formation of FRO and increased processes of LPO and OMP [5, 8, 3]. In NASH, there is increased activity of cytochrome P450 in the liver, which is able to generate FRO in the process of detoxification of free fatty acids (FFA), aldehydes, ketones, N-nitrosamines, and other endotoxins and exotoxins [1]. Initiation of necrotic processes in liver tissue is also a consequence of FRO hyperproduction [2]. An important role in the attachment of the inflammatory component is

played by the processes of LPO of structural membrane lipids, which induce the processes of apoptosis and cytolysis of hepatocytes [5, 1]. Evidence of this is a significant increase in the expression on lymphocytes of the marker of apoptosis Fas Apo-1 (CD95) against the background of a significant increase in LPO processes [1]. This is facilitated by hyperproduction of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TGF- β 1), which occurs in response to endotoxemia [2]. The entry of lysosomal hydrolases and other components of the hepatocyte into the intercellular space and into the systemic circulation is a signal to the induction of a cascade of reactions in response to damage [6, 1]. A further scenario involves the activation of cell adhesion molecules (ICAM-1, ICAM-2), polymorphonuclear infiltration of liver tissue, microcirculation disorders, ie the progression of dystrophic and inflammatory-necrotic changes in liver tissue [2]. By a similar mechanism, OS affects the endothelium, causing the development of endothelial apoptosis, its accelerated exfoliation and endothelial dysfunction (ED). OS promotes the development of micro- and macroangiopathies in patients with diabetes mellitus 2 with the development of angiospasm and in general – disruption of microcirculation and oxygen supply to peripheral tissues, liver and kidney parenchyma, which causes progression of NASH and DKD [6, 5, 1, 2].

Oxidative stress is counteracted by antioxidant defense systems (AODS). The leading system of the natural detoxification system and AODS is the glutathione system. Performing the functions of the universal redox system, glutathione and a number of enzymes that serve it protect cell membranes from the effects of FRO, nitrogen (peroxynitrite), hydroperoxides, and binds hydrophilic products of microsomal oxidation (first phase of detoxification) and provides the second phase conjugation) with the excretion of non-toxic compounds from the body [1, 2]. Under conditions of comorbidity of pathological conditions, which are accompanied by a significant degree of OS, it is important to monitor the state of the AODS, because the glutathione link is constantly depleted and requires periodic replenishment. In our previous studies, it was proved that appropriate control over the content of reduced glutathione in erythrocytes makes it possible to adequately assess the body's need to restore and stimulate the antioxidant system (AOS) in general in order to counteract OS [5, 1,

2]. Thus, a large number of studies on this comorbidity indicates a significant relevance of this problem, and a number of unresolved issues concerning the study of the mechanisms of cell damage by induction of apoptosis, as well as control over the intensity of their progression against the background of oxidative-antioxidant imbalance and, most importantly, the development of treatment methods by monitoring the state of the AOS and reducing the intensity of damaging free radical effects.

In terms of counteracting free radical effects in clinical practice, Quercetin is a flavonoid of herbal origin, which inhibits the intensity of LPO and OMP membranes, stimulates the activity of catalase and superoxide dismutase (SOD) in cells [9, 6, 10, 11, 12]. Quercetin restores the ability of the endothelium to synthesize NO, which explains its cardioprotective effect in ischemic and reperfusion heart disease [9, 10, 13, 14, 15]. The drug has a powerful anti-inflammatory effect, inhibiting 5-lipoxygenase, cyclooxygenase, hyaluronidase, a number of proteases, calcium-dependent ATPase, synthesis of leukotrienes LTC4 and LTB4, has immunomodulatory properties, thus, reducing the area of necrotized myocardium and enhancing reparative processes [16, 17, 7, 18, 19]. There are a number of reports of hypolipidemic, choleretic, anticholestatic, hepatoprotective properties of Quercetin, established in obese people and in patients with NASH [9, 10, 8, 20, 3, 4, 21–24]. At the same time, the complex effect of Quercetin on the functional state of the LPO-AODS, the intensity of apoptosis and the factors that regulate them in patients with NASH and DKD on the background of diabetes mellitus 2 has been studied in limited patients or experimentally.

The objective of the study was to determine the effect of a complex of Metformin, Rosuvastatin, Essentiale Forte N and Quercetin on the state of oxidative-antioxidant homeostasis, as well as the intensity of apoptosis of hepatocytes by blood cytokeratin-18 content, which are factors in the progression of NASH and DKD.

Material and methods. 75 patients with non-alcoholic steatohepatitis with type 2 diabetes mellitus and stage I–III diabetic kidney disease were studied over time. According to the prescribed treatment, the examined patients were divided into 2 groups: (group 1 – the controls: 37 patients) received a low-calorie diet with dietary restrictions No.9, essential phospholipids (Essentiale Forte N (Sanofi–Aventis / Natterman and Cie mg GmbH) 2

caps. 3 times a day) 30 days for the treatment of active NASH, metformin hydrochloride (Metformin-Teva, LLC Teva Operations Poland) 1000 mg per day, rosuvastatin (Rosuvastatin-Teva, LLC Teva Operations Poland) (5 mg once daily) for 1 month for concomitant type 2 diabetes and hyperlipidemia. Group 2 consisted of patients (38 people) who in addition to similar dietary recommendations and 1 month long therapy, received Quercetin and Povidone (Corvitin (PC NVC "Borshchahivsky CFP", Ukraine) 500 mg in 100 ml of isotonic sodium chloride solution) for 10 days. The mean age of patients was (54.7 ± 3.56) years. Groups of patients were randomized by age, sex, duration of the disease. The comparison group for the presentation of the average reference values of homeostasis indicators consisted of 30 apparently healthy individuals (AHP) of the corresponding age.

The diagnosis of NASH was established in accordance with the unified clinical protocol approved by the order of the Ministry of Health of Ukraine No. 826 dated 06.11.2014, in the presence of criteria for exclusion of chronic diffuse liver disease of viral, hereditary, autoimmune or drug origin as the cause of cytolytic, cholestatic syndromes and on account of the results of ultrasonography (USG) on the ultrasound scanner Ultima PA ("Radmir", Kharkov, Ukraine) with shear wave elastography to determine the stage of liver fibrosis [5], calculation of hepato-renal index (HRI) and biochemical stestotests ("SteatoTest", "ASH" and "NASH-Test" (BioPredictive, France)) – to determine the degree of steatosis of the liver and its nature (alcoholic or non-alcoholic).

Diagnosis of type 2 diabetes was carried out in accordance with the unified clinical protocol approved by the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 1118 dated 21.12.2012. Diagnosis and treatment of CKD was carried out according to the recommendations of clinical guidelines GA "Institute of Nephrology NAMS of Ukraine" (2012). Calculation of glomerular filtration rate (GFR) was performed using a GFR calculator of the Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine on the average value of three calculated indicators: creatinine clearance by Cocroft-Golt formula, MDRD and CKD EPI [6]. Determination of DKD stages was carried out according to the classification of Mogensen CE (1983) [9, 6].

The intensity of oxidative modification of proteins (OMP) in serum was determined by the

method of Dubinina OE et al. in the modification of Meshchishen IF with regard to the content of aldehyde and ketondinitro-phenylhydrazones (AKDPH) in the blood. The content of LPO products in the blood – isolated double bonds (IDP) in compounds, diene conjugates (DC), ketodienes and conjugated trienes (KCT) – was assayed according to Volchegorsky IA et al., Malonic aldehyde (MA) in blood plasma and Er – according to Vladimirov YuA, Archakov AI. The content of reduced glutathione (RG) in the blood was determined by the titration method according to Travina OV in the modification of Meshchishin IF, Petrova IV. The activity of enzymes of the AODS: glutathione peroxidase (GP) was studied by Meshchishin IF, glutathione-S-transferase (GT) – by Meshchishin IF, catalase – by Korolyuk MA et al. Enzyme activity was calculated per 1 g of Hb. The content of cytokeratin-18 (CC-18) in the blood was assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using Elisa reagents. The content of homocysteine in the blood was performed by ELISA using a set of reagents Axis® Homocysteine Enzyme Immunoassay.

Before testing the statistical hypotheses, the analysis of the normality of the distribution of values in randomized samples was performed by determining the coefficients of asymmetry and excess using the Khan–Shapiro–Wilk test. The statistical significance of the difference between the arithmetic mean and its error between the study groups was determined using the bilateral odd Student's t-test. The difference was considered significant at a significance level of $p < 0.05$. Student's t-test was used only in the case of a normal distribution of equal variances of the compared samples, which was checked using Fisher's F-test. In other cases, a nonparametric Mann–Whitney rank test was used to compare the results. The statistical significance of changes in variations over time in the case of normal distribution in the samples was determined by Student's paired test, in other cases – by non-parametric paired T-test of Wilcoxon. For statistical analysis of the obtained results we used Statistica software packages for Windows version 8.0 (Stat Soft Inc., USA), Microsoft Excel 2007 (Microsoft, USA).

Research results and discussion. The analysis of the obtained data showed that before treatment in patients of both groups of comparison a significant degree of OS was established, which was accompanied by a significant accumulation in the

blood of intermediate and final products of LPO and OMP. Thus, before treatment, the content of MA in blood plasma exceeded the reference values by 2.1 times ($p < 0.05$), the content of FRO – by 1.9 times ($p < 0.05$), the content of AKDPH OC – by 2.3 times ($p < 0.05$) (Table 1). At the same time, the state of the antioxidant defense system was significantly unbalanced. Thus, the content of GR in the blood was lower than in AHP by 1.7 times

($p < 0.05$), the activity of G3 – was inhibited by 1.3 times ($p < 0.05$), which explains the high intensity of OS in the subjects patients.

These products of LPO and OMP on the background of significant insufficiency of the ADS system led to the activation of hepatocyte apoptosis. Evidence of this is a significant increase in the content of CC-18 in the blood – by 7.5 times ($p < 0.05$) compared with AHP.

Table 1 – Indicators of oxidative stress intensity, antioxidant protection factors and markers of hepatocyte apoptosis in patients with a combined course of non-alcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease over time ($M \pm m$)

Indexes	AHP, n = 30	Groups of examined patients			
		Control group, n = 37		Main group, n = 38	
		before	after	before	after
MA plasma, $\mu\text{mol}/\text{hour} \cdot \text{L}$	2.22 ± 0.09	$4.71 \pm 0.09^*$	$3.18 \pm 0.07^{**}/\#$	$4.73 \pm 0.07^*$	$2.35 \pm 0.05^{**}/\#$
IDP, E220/ml	2.89 ± 0.02	$5.53 \pm 0.06^*$	$4.76 \pm 0.05^{**}/\#$	$5.52 \pm 0.08^*$	$3.28 \pm 0.04^{**}/\#$
AKDPH OC, U/L of protein	1.37 ± 0.03	$3.17 \pm 0.08^*$	$2.75 \pm 0.04^{**}/\#$	$3.19 \pm 0.05^*$	$1.70 \pm 0.03^{**}/\#$
GR, $\mu\text{kmol}/\text{L}$	0.93 ± 0.04	$0.56 \pm 0.05^*$	$0.65 \pm 0.04^*$	$0.55 \pm 0.06^*$	$0.83 \pm 0.02^{**}/\#$
GP, nmol VG/min $\cdot$ g Hb	152.22 ± 3.46	$120.31 \pm 5.45^*$	$131.64 \pm 5.14^*$	$122.18 \pm 5.36^*$	$149.85 \pm 3.25^{**}/\#$
Cytokeratin- 18, U/L	57.62 ± 5.37	$428.34 \pm 17.87^*$	$385.83 \pm 15.83^*$	$430.52 \pm 18.45^*$	$249.28 \pm 12.19^{**}/\#$
Homocysteine, $\mu\text{kmol}/\text{L}$	9.93 ± 0.42	$38.27 \pm 1.51^*$	$32.62 \pm 1.37^*$	$39.23 \pm 1.43^*$	$20.42 \pm 1.31^{**}/\#$

Note: * – the difference is significant in comparison with the indicator in AHP ($p < 0.05$);

** – the difference is significant in comparison with the indicator before treatment ($p < 0.05$);

– the difference is significant in comparison with the indicator in patients of the control group after treatment ($p < 0.05$)

Intensive OS and metabolic intoxication also resulted in an increase in the blood content of homocysteine in patients with NASH with DKD – by 3.9 times ($p < 0.05$), which poses a risk of endothelial damage and progression of DKD.

The correlation analysis indicates a strong and medium correlation between the intensity of OS and the content of CC-18 and homocysteine in the blood of patients with NASH with DKD on the background of diabetes mellitus 2 (Table 2), as well as weak and medium relationship with markers of liver damage in NASH and stage DKD ($p < 0.05$).

Analyzing the indicators after treatment should indicate the higher effectiveness of therapy, which additionally contained Quercetin. Thus, significantly increased content of MA in the blood before treatment under the influence of therapy decreased in group 1 by 1.5 times ($p < 0.05$), in

group 2 – by 2.0 times ($p < 0.05$). The increased content of the intermediate product LPO IDP decreased by 1.2 and 1.7 times, respectively ($p < 0.05$). The prescribed therapy also had a significant effect on the increased content of AKDPH OC in the blood (2.3 times): the decrease was 1.2 and 1.9 times, respectively ($p < 0.05$). That is, after treatment we found a decrease in the intensity of OS as relative to the oxidation of structural lipids of cell membranes, including endothelium, hepatocytes and podocytes, and relative to structural proteins, due to the established increase in the activity of AODS. This is evidenced by the recovery of more glutathione in erythrocytes: in group 1 – 1.2 times ($p > 0.05$), in group 2 – 1.5 times ($p < 0.05$) and a significant increase in the activity of GP after treatment – only in patients of group 2 1.2 times ($p < 0.05$) (Table 1).

Table 2 – Matrix of correlations of morpho-functional parameters of the liver, kidneys, blood cytokeratin-18 and homocysteine with indicators of oxidative-antioxidant homeostasis in patients with NASH and DKD, DM2 (r, p)

Index	MA	IDP	DC	AKDPH	GR	GP	Catalase
Bilirubin	0.32*	0.43*	0.41*	0.38*	-0.45*	-0.21	-0.23
ALT	0.53*	0.57*	0.58*	0.44*	-0.69*	-0.34*	-0.37*
AST	0.51*	0.53*	0.51*	0.39*	-0.64*	-0.33*	-0.38*
GGT	0.49*	0.44*	0.47*	0.32*	-0.57*	-0.20	-0.25
AP	0.41*	0.43*	0.42*	0.33*	-0.43*	-0.28*	-0.12
Thymol test	0.48*	0.49*	0.47*	0.45*	-0.68*	-0.35*	-0.37*
Albumins	-0.34*	-0.41*	-0.42*	-0.34*	0.59*	0.43*	0.45*
Creatinine	0.58*	0.59*	0.60*	0.63*	-0.67*	-0.50*	-0.53*
GFR	-0.61*	-0.63*	-0.65*	-0.62*	0.62*	0.32*	0.33
Steat test	0.60*	0.62*	0.63*	0.51*	-0.65*	-0.49*	-0.50*
NASH- test	0.63*	0.65*	0.66*	0.52*	-0.68*	-0.53*	-0.56*
Fibrotest	0.54*	0.57*	0.59*	0.57*	-0.67*	-0.55*	-0.57*
CC-18	0.63*	0.68*	0.72*	0.70*	-0.75*	-0.64*	-0.65*
Homocysteine	0.51*	0.53*	0.57*	0.44*	-0.61*	-0.43*	-0.48*

Note: * – statistically significant correlation coefficient ($p < 0.05$)

The obtained research results indicate that a significant decrease in the intensity of apoptosis processes after treatment was registered only in patients of group 2. Thus, the average blood content of CC-18 in patients with NASH with DKD group 2 after treatment significantly decreased by 1.7 times ($p < 0.05$), while in patients with group 1 changes were unlikely.

Conclusions/Висновки

Comorbid course of nonalcoholic steatohepatitis and diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes mellitus is accompanied by a significant increase in the intensity of oxidative stress, accompanied by an increase in the content of intermediate and final products of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins ($p < 0.05$). The damaging effect of oxidative stress in patients with type 2 diabetes leads to activation of hepatocyte apoptosis (7.5-fold increase in blood cytokeratin-18, $p < 0.05$) with the progression of

The effect of the proposed therapy with the addition of Quercetin was also more significant on the content of homocysteine in the blood – the decrease was 1.9 times ($p < 0.05$), and in patients of the control group the indicator only tended to decrease ($p > 0.05$).

NASH, and an increased risk of endothelial damage due to atherogenesis (3.9 -fold hyperproduction of homocysteine, $p < 0.05$) with the progression of DKD. The use of Quercetin in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis and type 2 diabetes with DKD contributes to a significant reduction in the intensity of oxidative stress, increased activity of antioxidant defense factors (reduced glutathione, glutathione peroxidase), resulting in a 1.7-fold decrease and endothelial damage (1.9-fold reduction of homocysteine in the blood).

References/Список літератури

1. Khukhlina OS, Antoniv AA, Mandryk OYE, Hrynyuk OYE. *Nealkohol'na zhyrova khvoroba pechinky ta komorbidni stany: osoblyvosti patohenezu, kliniky, diahnozyky, likuvannya* [Non-alcoholic fatty liver disease and comorbid conditions: features of pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment] Chernivtsi, 2017. 188 s.
2. Khukhlina OS, Antoniv AA. [Clinical course of non-alcoholic steatohepatitis in comorbidity with chronic kidney disease

- stage I–III]. *Hepatolohiya*. 2017;4(38): 37–48. http://nbuv.gov.ua/UJRN/gepat_2017_4_7
3. Pisonero-Vaquero S, González-Gallego J, Sánchez-Campos S, García-Mediavilla MV. Flavonoids and related compounds in nonalcoholic fatty liver disease therapy. *Curr Med Chem*. 2015; 22(25): 2991–3012.
 4. Son HY, Lee MS, Chang E, et al. Formulation and characterization of quercetin-loaded oil in water nanoemulsion and evaluation of hypocholesterolemic activity in rats. *Nutrients*. 2019; 11(2). pii: E244/ DOI: 10.3390/nu11020244
 5. Khukhlina OS, Antoniv AA. [Intensity of nitrosive and oxidative stress in patients with non-alcoholic steatohepatitis with comorbidity with chronic kidney disease] *Suchasna hastroenterolohiya*. 2018;3(101): 21–26. http://nbuv.gov.ua/UJRN/SGastro_2018_3_5
 6. Dynnyk NV [The use of non-invasive biomarkers and the place of cytokeratin-18 in the diagnosis of patients with non-alcoholic fatty liver disease]. *Ukrayins'kyi naukovo-medychnyy molodizhnyy zhurnal*, 2016; 2(95), 12–18. <http://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/129>
 7. Luca SV, Macovei I, Bujor A, et al. Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019; 1–34. <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/129>
 8. Hassan HA, El-Gharib NE. Obesity and clinical riskiness relationship: therapeutic management by dietary antioxidant supplementation – a review. *Appl Biochem Biotechnol*. 2015; 176(3): 647–669. DOI: 10.1007/s12010-015-1602-6
 9. Vovkun TV, Yanchuk PI, Shtanova LYA et al. [Corvutin modulates the lipid content in the bile of rats]. *Ukr. Biochem. J.*, 2019;91(6):112–121. doi:<https://doi.org/10.15407/ubj91.06.112>
 10. Zupanets YA, Podpruzhnykov YUV, Shalamay AS, Bezuhlaya NP [Study of the pharmacokinetics of the drug "Corvutin"] *Ukrayins'kyi medychnyy al'manakh*. 2011. 14 (6): 81–83. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uma_2011_14_6_24
 11. Jin HB, Yang YB, Song YL, et al. Protective roles of quercetin in acute myocardial ischemia and reperfusion injury in rats. *Mol. Biol. Rep.* 2012; 9 (12): 11005–9. DOI: 10.1007/s11033-012-2002-4
 12. Jung CH, Cho I, Ahn J, Jeon TI, Ha TY. Quercetin reduces high-fat diet-induced fat accumulation in the liver by regulating lipid metabolism genes. *Phytother Res*. 2013; 27(1): 139–143. DOI: 10.1002/ptr.4687
 13. Parkhomenko AN, Kozhukhov SN [Efficacy of the intravenous form of quercetin 5-lipoxygenase blocker in patients with myocardial infarction and acute heart failure syndrome: a possible link with the correction of nitric oxide metabolism] *Ukr. med. chasopis*, 2005; 2(46): 45–51 (<http://www.umj.com.ua/article/707>).
 14. Rudyk YUS [Corvutin and myocardial ischemia: mechanism of cardioprotection]. *Ratsional'na farmakoterapiya*, 2019; 1–2 (50–51): 34–36.
 15. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev*. 2016; 10(20): 84–89. DOI: 10.4103/0973-7847.194044
 16. Bartekova M, Radosinska J, Pancza D, Barancik M., Ravingerova T. Cardioprotective effects of quercetin against ischemia-reperfusion injury are age-dependent. *Physiol. Res*. 2016; 65 (Suppl. 1): S101–S107. DOI: 10.33549/physiolres.933390
 17. Chi-Yu Yang, Su-Lan Hsiu, Kuo-Ching Wen et al. Bioavailability and Metabolic Pharmacokinetics of Rutin and Quercetin in Rats / *Journal of Food and Drug Analysis*, 2005.13 (3): 244– 250. DOI: 10.38212/2224-6614.2517
 18. Moon YJ, Wang L, DiCenzo R., Morris ME. Quercetin pharmacokinetics in humans. *Biopharm Drug Dispos*, 2008; 29 (4): 205–217. DOI: 10.1002/bdd.605
 19. Padma VV, Lalitha G, Shirony NP, Baskaran R. Effect of quercetin against lindane induced alterations in the serum and hepatic tissue lipids in wistar rats. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012; 2(11): 910–915. Doi: 10.1016/S2221-1691(12)60252-4
 20. Miltonprabu S, Tomczyk M, Skalicka-Woźniak K, et al. Hepatoprotective effect of quercetin: From chemistry to medicine. *Food Chem Toxicol*. 2017; 108 (Pt B): 365–374. DOI: 10.1016/j.fct.2016.08.034



21. Vovkun TV, Yanchuk PI, Shtanova LY, Veselsky SP, Reshetnik EN, Shalamay AS, Baranowsky VA. Exocrine function of the liver in rats exposed to corvutin. *Int J Physiol Pathophysiol.* 2017; 8(3): 207-217. DOI: 10.15407/fz62.03.030
22. Vovkun T, Yanchuk P, Shtanova L, Veselskiy S, Filimonova N, Shalamay A, Vedmid V. Watersoluble quercetin modulates the choleresis and bile lipid ratio in rats. *Gen Physiol Biophys.* 2018; 37(1): 111-120. DOI: 10.4149/gpb_2017015
23. Ying HZ, Liu YH, Yu B, Wang ZY, Zang JN, Yu CH. Dietary quercetin ameliorates nonalcoholic steatohepatitis induced by a highfat diet in gerbils. *Food Chem Toxicol.* 2013; 52: 53-60. DOI: 10.1016/j.fct.2012.10.030
24. Zhang M, Xie Z, Gao W, Pu L, Wei J, Guo C. Quercetin regulates hepatic cholesterol metabolism by promoting cholesterol-to-bile acid conversion and cholesterol efflux in rats. *Nutr Res.* 2016; 36(3): 271-279. DOI: 10.1016/j.nutres.2015.11.019

(received 20.08.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 20.08.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Хухліна Оксана Святославівна – док. мед. наук, доцент кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Коцюбійчук Зоряна Ярославівна – асистент кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Антонів Альона Андріївна – док. мед. наук, доцент кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Abstract

Zoriana Ya. Kotsiubiichuk,
Oksana S. Khukhlina,
Aliona A. Antoniv,
Oleksandra I. Roshchuk¹,
Olga Ye. Mandryk,
Oleksandra V. Garvasiuk²,

*Department of Internal Medicine,
Clinical Pharmacology and
Occupational Diseases, Higher
Educational Establishment
"Bukovinian State Medical
University", Chernivtsi, Ukraine;*

¹*Department of Dental
Orthopedics, Higher Educational
Establishment "Bukovinian State
Medical University", Chernivtsi,
Ukraine;*

²*Department of Pathological
Anatomy, Higher Educational
Establishment "Bukovinian State
Medical University", Chernivtsi,
Ukraine*

**THE EFFECT OF BICYCLOL ON THE STATE OF
THE CONNECTIVE TISSUE COMPONENTS OF THE LIVER
EXTRACELLULAR MATRIX IN THE COMPLEX THERAPY
OF NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS WITH LIVER
FIBROSIS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS**

The aim of the research was to determine the probable effect of metformin, rosuvastatin and bicyclol on markers of hepatocyte cytolysis in patients with nonalcoholic steatohepatitis and diabetes mellitus type 2 with diabetic kidney disease, the degree of hepatocyte steatosis and stage of liver fibrosis, as well as the content of extracellular protein and carbohydrate components in the blood tissues that are markers of the intensity of liver fibrosis and the progression of non-alcoholic steatohepatitis.

Materials and methods. Study of changes in the course of treatment of 60 patients with nonalcoholic steatohepatitis with type 2 diabetes mellitus and stage I–IV diabetic kidney disease was conducted, among whom 48 patients were diagnosed with mild non-alcoholic steatohepatitis and 12 – with moderate non-alcoholic steatohepatitis. A comorbid disease, i.e. type 2 diabetes mellitus of moderate severity, was registered in 100% of patients with nonalcoholic steatohepatitis: among them, 15 people had diabetes in the compensatory stage, 45 people – in the subcompensated stage. All patients with nonalcoholic steatohepatitis and type 2 diabetes had comorbid diabetic kidney disease, including 21 cases of stage I–II diabetic kidney disease, 20 cases of stage III diabetic kidney disease, and 19 patients with stage IV diabetic kidney disease.

Results. Analysis of the results of extracellular matrix connective tissue metabolism in the blood of patients with non-alcoholic steatohepatitis on the background of type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease indicated that the inflammatory and dysmetabolic process contributed to a significant imbalance of connective tissue components. In particular, activation of anabolic collagen was shown on the basis of an increase in blood protein-bound oxyproline by 2 times ($p < 0.05$), as well as a decrease in the intensity of collagen catabolism – based on a decrease in blood free oxyproline by 1.4 times ($p < 0.05$), which probably occurred due to inhibition of collagenolytic activity of blood plasma (by 1.4 times, $p < 0.05$). That is, activated processes of collagen synthesis were accompanied by inhibition of its degradation and accumulation in the extracellular matrix. We also found a significant increase in the blood content of hexosamines by 1.5 times ($p < 0.05$) and accelerated degradation of carbohydrate-protein components of the

matrix (with an increase in the content of unbound fucose by 2.6 times, ($p < 0.05$)).

Conclusions. The combination therapy with metformin, rosuvastatin in combination with Bicyclol in individuals with comorbid nonalcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease for 3 months helped to eliminate the syndrome of cytolysis of hepatocytes, a significant reduction liver fibrosis intensity due to optimization of spectrum of connective tissue components of the extracellular matrix in the blood with a decrease in the content of markers of collagen anabolism, increase in the content of markers of collagen catabolism due to increased total collagenolytic activity of blood plasma, decrease in the content of hexosamines and carbohydrate protein markers.

Keywords: non-alcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes mellitus, diabetic kidney disease, liver steatosis, liver fibrosis, Bicyclol.

Corresponding author:

Aliona A. Antoniv, Higher Educational Establishment "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

e-mail: antonivalona@ukr.net

Резюме

Зоряна Я. Коцюбійчук,
Оксана С. Хухліна,
Альона А. Антонів,
Олександра І. Рошук¹,
Ольга Є. Мандрик,
Олександра В. Гарвасюк²,
Кафедра внутрішньої медицини,
клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна;
¹Кафедра ортопедичної стоматології, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна;
²Кафедра патологічної анатомії, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

ВПЛИВ БІЦИКЛОЛУ НА СТАН СПОЛУЧНОТКАНИННИХ КОМПОНЕНТІВ ПОЗАКЛІТИННОГО МАТРИКСУ ПЕЧІНКИ У КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТУ З ФІБРОЗОМ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ТИПУ 2

Мета роботи: з'ясувати можливий вплив комплексу засобів метформіну, розувастатину та біциклолу на маркери цитолізу гепаточитів та стадію фіброзу печінки. білкових компонентів позаклітинного матриксу печінкової тканини, які є маркерами інтенсивності фіброзування печінки та прогресування неалкогольного стеатогепатиту.

Матеріали та методи. Проведено дослідження динаміки лікування 60 хворих на неалкогольний стеатогепатит з цукровим діабетом 2 типу та діабетичною хворобою нирок I–IV стадії, з яких у 48 пацієнтів діагностовано неалкогольний стеатогепатит легкого ступеня, а у 12 – неалкогольний стеатогепатит середнього ступеня тяжкості. Коморбідність захворюванням у 100% хворих на неалкогольний стеатогепатит був цукровий діабет типу 2 середнього ступеня тяжкості, серед яких у 15 осіб цукровий діабет був у стадії компенсації, у 45 субкомпенсований. Всі хворі на неалкогольний стеатогепатит і цукровий діабет типу 2 мали коморбідність діабетичної хвороби нирок, зокрема, 21 особа з діабетичною хворобою нирок II стадії, 20 осіб з діабетичною хворобою нирок I–II стадії, 19 осіб з діабетичною хворобою нирок IV стадії.

Результати. Аналіз результатів дослідження вмісту продуктів метаболізму сполучної тканини позаклітинного матриксу в крові хворих на неалкогольний стеатогепатит на тлі цукрового діабету типу 2 та діабетичної хвороби нирок вказує на те, що запальний та дисметаболічний процес сприяє суттєвому дисбалансу компонентів сполучної тканини. Зокрема, встановлено активацію анаболічних колагену за зростанням у крові білковозв'язаного оксипроліну в 2,0 рази ($p < 0,05$), а також зниження інтенсивності процесів катаболізм-

му колагену – за зниженням вмісту в крові вільного оксипроліну у 1,4 рази ($p < 0,05$), що виникло, ймовірно, внаслідок гальмування колагенолітичної активності плазми крові (в 1,4 рази, $p < 0,05$). Тобто активовані процеси синтезу колагену супроводжуються гальмуванням його деградації з накопиченням позаклітинного матриксу. Нами також встановлено суттєве підвищення вмісту в крові гексазамінів у 1,5 рази ($p < 0,05$) та прискорена деградація вуглеводно-білкових компонентів матриксу (зі зростанням вмісту в крові фукози, не пов'язаного з білком, у 2,6 рази, ($p < 0,05$)).

Висновки. Комбінована терапія метформіном, розувастатином у поєднанні з біциклолом у осіб з коморбідним неалкогольним стеатогепатитом, цукровим діабетом 2 типу та діабетичною хворобою нирок протягом 3 місяців дозволила усунути синдром цитолізу гепатоцитів, значно знизити вираженість фіброзу. Сполучнотканинні компоненти позаклітинного матриксу в крові при зниженні вмісту маркерів анаболізму колагену, підвищенні вмісту маркерів катаболізму колагену за рахунок підвищення загальної колагенолітичної активності плазми крові, зниженні вмісту гексазамінів та вуглеводного білка маркери.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, цукровий діабет типу 2, діабетична хвороба нирок, стеатоз печінки, фіброз печінки, біциклол.

Автор, відповідальний за листування:

Альона А. Антонів, кафедра внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна
e-mail: antonivalona@ukr.net

How to cite/ Як цитувати статтю: Kotsiubiichuk ZY, Khukhlina OS, Antoniv AA, Roshchuk OI, Mandryk OYe, Garvasiuk OV. The effect of Bicyclol on the state of the connective tissue components of the liver extracellular matrix in the complex therapy of non-alcoholic steatohepatitis with liver fibrosis in patients with type 2 diabetes mellitus. *EUMJ*. 2021;9(4):432-440
DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(4\):432-440](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(4):432-440)

Introduction/Вступ

The urgency of the problem of comorbid non-alcoholic steatohepatitis (NASH), type 2 diabetes mellitus (DM2) and diabetic kidney disease (DKD) have a number of mechanisms of mutual burden, the elimination of which will contribute to the achievement of clinical remission of diseases, compensation of the function of the liver and kidneys. The leading links in the pathogenesis of NASH are hepatocyte steatosis and mesenchymal inflammation, each of which can induce liver tissue fibrosis and NASH progression to liver cirrhosis [1, 2, 3, 4]. Liver tissue fibrosis is based on the activation of perisinusoidal stellate Ito cells, which under the influence of numerous proinflammatory factors, hypoxia and oxidative stress are transformed into myofibroblast-like cells, activated and able to synthesize large amounts of collagen, periin perivenular (centrilobular) and then penetrate

deep into the lobe, forming septal liver fibrosis [5, 4, 6, 7, 8, 9].

One of the probable pathogenetic mechanisms of diabetes and DKD progression is also pancreatic fibrosis in the islets of Langerhans and renal parenchyma as a consequence of microangiopathies and endothelial dysfunction [6, 10].

These processes are opposed by various anti-inflammatory factors of natural origin – a number of anti-inflammatory cytokines, natural antioxidants, release of glucocorticoid hormones (GCH), reperfusion after ischemia, etc., but all these measures have a compensatory effect, require careful monitoring of anti-inflammatory processes. [11, 3, 12, 13, 14]. At the same time, the list of drugs that have a proven antifibrotic effect is quite limited [11]. The use of GCH drugs in dysmetabolic and inflammatory liver disease – NASH is not justified and even contraindicated,

because GCH transfer all types of metabolism to carbohydrate rails, stimulate hyperglycemia and hyperlipidemia, increase hepatocyte steatosis [11]. In hepatitis of viral origin (B, C, B + D) the effectiveness of interferon- α 2a and 2b with the implementation of a powerful anti-inflammatory and antifibrotic action was proved [15, 16, 2, 17]. However, in NASH, this therapy is not used due to inefficiency, clinical manifestation of a number of significant side effects of α -interferons. There are reports of the use of a drug with hepatoprotective, anti-inflammatory action – heparizin, which contains glyceric acid, and has a mild antifibrotic effect in NASH [11, 12].

In the available literature there are a number of reports on the use of the drug Bicyclol for anti-inflammatory, antifibrotic purposes in liver diseases of various origins, primarily viral hepatitis and liver cirrhosis [2, 8–11, 13–29]. Bicyclol is a high-tech, original, synthetic drug [11, 16]. Based on the results of multicenter, randomized, blind, placebo-controlled studies conducted in accordance with the principles of evidence-based medicine, Bicyclol is able to eliminate the cytolytic syndrome – to reduce the increased activity of aminotransferases in viral hepatitis B, C, fatty liver disease and alcoholic liver disease – when the liver is affected by chloroform, D-galactosamine and acetaminophen, to restore the violation of the structure of liver tissue in different severity [2, 8–11, 13–17]. Bicyclol inhibits the production of active neutrophils, Kupffer cells and macrophages of tumor necrosis factor- α (TNF α), as well as removes from the cells and neutralizes free radicals of oxygen and nitrogen [11, 16]. Bicyclol suppresses oxidative stress, restores the structure of the nucleus and DNA, the functional state of hepatocyte mitochondria, prevents apoptosis and necrosis of hepatocytes, helps to restore the functional state of hepatocytes, inhibits the process of fibrosis of liver tissue [2, 8–11, 13–17]. Studies have also been performed to prove the effectiveness of Bicyclol in alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease on the background of obesity [1, 3, 4, 8], toxic and drug-induced hepatitis [11, 14], for liver rehabilitation after chemotherapy and chemoprophylaxis of GCH posttransplant reactions in kidney transplantation [10], cancer [17]. At the same time, there are no detailed data on the use of Bicyclol in NASH with stage 1–3 fibrosis on the background of DM2 with DKD in the literature, or there are reports of studies conducted in the experiment. These circumstances led to research in this direction.

The purpose of the study was to determine the probable effect of a complex of metformin, rosuvastatin and bicyclol on markers of hepatocyte cytolysis in patients with nonalcoholic steatohepatitis and diabetes mellitus type 2 with DKD, the degree of hepatocyte steatosis and stage of liver fibrosis, as well as the content of extracellular protein and carbohydrate components in the blood tissues that are markers of the intensity of liver fibrosis and the progression of NASH.

Material and methods. Study include 60 patients with NASH, type 2 diabetes and stage I–IV DKD, among which 48 patients (80.0%) were diagnosed with mild NASH, and 12 (20.0%) – NASH of moderate activity. A comorbid disease, i.e. type 2 diabetes mellitus of moderate severity, was registered in 100% of patients with NASH: among them, 15 people (25.0%) had compensated diabetes, 45 (75.0%) people had subcompensated stage. All patients with NASH and diabetes mellitus had comorbid DKD, in particular, 21 cases of DKD stage I–II (35.0%), 20 people with DKD stage III (33.3%), 19 people with DKD stage IV (31.7%). In 15 (25.0%) examined have secondary arterial hypertension (AH) of renal genesis of the I–II degree was established, in 11 persons (18.3%) essential AH of the I–II stage, I–II degree was established. Patients were excluded from the study if they had chronic pathology in the active phase or in the stage of decompensation (heart, blood vessels, kidneys, digestive system, blood and hematopoiesis, neurological, psychiatric, cancer, endocrine, rheumatic diseases, fatty liver disease of alcoholic etiology), acute diseases, pregnancy, lactation.

Depending on the prescribed treatment on a random basis, the examined patients were divided into 2 groups: group 1 (n = 28 patients) received a low-calorie diet, essential phospholipids (EPL) 300 mg 2 capsules 3 times a day) 90 days for the treatment of active NASH, metformin hydrochloride for type 2 diabetes and hyperlipidemia prescribed 1000 mg per day, rosuvastatin (5 mg once daily) for 90 days. Group 2 (n = 32 patients) consisted of patients who, in addition to similar dietary recommendations, hypoglycemic and hypolipidemic therapy instead of EFL received additional drug Bicyclol (Beijing Union Pharmaceutical Factory, China) 25 mg 3 times a day for 90 days. The mean age of patients was (53.8 ± 3.52) years. The comparison group for the presentation of reference values of homeostasis was 30 healthy people of the appropriate age.

NASH was diagnosed in accordance with the recommendations of the unified clinical protocol approved by the order of the Ministry of Health of Ukraine № 826 06.11.2014, in the presence of criteria for exclusion of chronic diffuse liver disease of viral, hereditary, autoimmune or drug genesis as a cause of cytolytic, mesenchymal, inflammatory FibroMax Test, which included "SteatoTest", "ASH" and "NASH-Test" (BioPredictive, France) – to determine the degree of liver steatosis and its nature (alcoholic or non-alcoholic), "FibroTest" – to determine the stage of liver fibrosis, and also on the basis of the results of ultrasonography (USG) on the US scanner Ultima PA ("Radmir", Kharkiv, Ukraine).

Diagnosis of type 2 diabetes was carried out in accordance with the unified clinical protocol approved by the Order of the Ministry of Health of Ukraine № 1118 of 21.12.2012. Diagnosis and treatment of DKD was carried out according to the recommendations of clinical guidelines GA "Institute of Nephrology NAMS of Ukraine" (2012). Calculation of the glomerular filtration rate (GFR) was performed using a GFR calculator of the Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, KDIGO (2012,2020) recommends using CKD EPI equation. Determination of the stages of DKD was carried out according to the classification of C.E. Mogensen (1983).

The condition of the connective tissue components (CT) of extracellular matrix (ECM) was determined by the content of free oxyproline (FOP) – by the method of S.S. Tetyanets, protein-bound oxyproline (PBOP) – by the method of M.A. Osadchuk, hexosamines (HA) – by the method of O.G. Arkhipova, non-protein fucose (NPF) – by the method of P.M. Sharayeva et al. Collagenolytic activity (CLA) of blood plasma was studied by the intensity of azocol lysis.

The dynamics of treatment was assessed by markers of damage and liver function tests, the results of "SteatoTest" and "FibroTest", the state of protein and carbohydrate-protein components of the extracellular matrix of liver tissue by 30 and 90 days.

The research was carried out in compliance with the basic provisions of the GSR (1996), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (04.04.1997), the Helsinki Declaration of the World Medical Association on the ethical principles of scientific medical research with human participation (1964–2013), order of the

Ministry of Health of Ukraine № 690 dated 23.09.2009, № 616 dated 03.08.2012.

Before testing the statistical hypotheses, the analysis of the normality of the distribution of values in randomized samples was performed by determining the coefficients of asymmetry and excess using the Khan–Shapiro–Wilkie test. The probability of the difference of the arithmetic mean and its error between the study groups was determined using the bilateral odd Student's t-test. The difference was considered significant at a significance level of $p < 0.05$. Student's t-test was used only in the case of a normal distribution of equality of the general variances of the compared samples, which was verified using Fisher's F-test. In other cases, a nonparametric Mann–Whitney rank test was used to compare the results. The probability of changes in the dynamics of treatment in the case of normal distribution in the samples was determined by Student's paired test, in other cases – by non-parametric paired T-test of Wilcoxon. For statistical analysis of the obtained results we used software packages Statistica for Windows version 8.0 (Stat Soft inc., USA), Microsoft Excel 2007 (Microsoft, USA).

Results of the research. Analysis of the results of the study of the content of metabolic products of CT ECM (Table 1) in the blood of patients with NASH on the background of diabetes and DKD indicates that the inflammatory and dysmetabolic process contributes to a significant imbalance of the components of CT. In particular, the activation of collagen anabolism processes was increased by a 2-fold increase in PBOP blood ($p < 0.05$), as well as a decrease in the intensity of collagen catabolism processes by a 1.4-fold decrease in blood FOP content ($p < 0.05$), which probably occurred due to inhibition of collagenolytic activity of blood plasma (1.4 times, $p < 0.05$).

At the same time, we found that Bicyclol, even with treatment for 30 days, affects the metabolism of CT components and probably inhibits the development of fibrosing reactions in patients with NASH. Thus, after 30 days of treatment, a significant decrease in the content of PBOP in 1.4 times ($p < 0.05$) was registered only in the 2nd observation group, as well as an increase in the intensity of collagenolysis FOP in 1.5 times ($p < 0.05$), as well as the rate of CLA – 1.7 times ($p < 0.05$) compared to the rate before treatment), in the absence of probable changes in the control group (1 group). These processes were accompanied by a significant inhibition of degradation of

fucoglycoproteins (1.4 times, $p < 0.05$) in the dynamics of treatment of patients in group 2 and a significant decrease in the content of HA in the

blood (1.4 times, $p < 0.05$), while in the comparison group, the parameters tended to decrease ($p > 0.05$).

Table 1 – Content of metabolic products of connective tissue components in the blood patients with non-alcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease in the dynamics of treatment ($M \pm m$)

	Indicators	Groups of examined patients		
		Group 1 (n = 28)	Group 2 (n = 32)	Control group (n = 30)
Before treatment	PBOP, mkmol/L	79.64 $\pm$ 5.34 *	79.62 $\pm$ 5.37 *	40.28 $\pm$ 3.73
	FOP, mkmol/L	9.03 $\pm$ 0.17 *	9.01 $\pm$ 0.18 *	12.93 $\pm$ 0.03
	Fucosa, units	95.33 $\pm$ 8.45 *	95.35 $\pm$ 8.39 *	37.34 $\pm$ 5.45
	HA, mmol/L	8.41 $\pm$ 0.57 *	8.43 $\pm$ 0.55 *	5.51 $\pm$ 0.06
	CLA, mkmol/L per hour	0.63 $\pm$ 0.03 *	0.64 $\pm$ 0.04 *	0.87 $\pm$ 0.02
After 30 days of treatment	PBOP, mkmol/L	70.35 $\pm$ 4.54 *	57.63 $\pm$ 4.32 **/#	40.28 $\pm$ 3.73
	FOP, mkmol/L	10.25 $\pm$ 0.57 *	13.34 $\pm$ 0.17 */**/#	12.93 $\pm$ 0.03
	Fucosa, units	89.75 $\pm$ 6.13 *	68.12 $\pm$ 2.18 */**/#	37.34 $\pm$ 5.45
	HA, mmol/L	7.38 $\pm$ 0.22 *	5.91 $\pm$ 0.24 **/#	5.51 $\pm$ 0.06
	CLA, mkmol/L per hour	0.70 $\pm$ 0.03 *	1.08 $\pm$ 0.02 */**/#	0.87 $\pm$ 0.02
After 90 days of treatment	PBOP, mkmol/L	62.65 $\pm$ 6.35 *	43.21 $\pm$ 2.31 **/#	40.28 $\pm$ 3.73
	FOP, mkmol/L	11.08 $\pm$ 0.59 */**	13.52 $\pm$ 0.28 **/#	12.93 $\pm$ 0.03
	Fucosa, units	65.22 $\pm$ 5.38 */**	46.98 $\pm$ 2.39 **/#	37.34 $\pm$ 5.45
	HA, mmol/L	7.46 $\pm$ 0.40 *	5.74 $\pm$ 0.21 **/#	5.51 $\pm$ 0.06
	CLA, mkmol/L per hour	0.74 $\pm$ 0.07 *	0.98 $\pm$ 0.05 **/#	0.87 $\pm$ 0.02

Note: * – the difference for examined patients versus control group ($p < 0.05$); ** – a significant difference in comparison with the baseline indicator ($p < 0.05$); # – the difference in comparison with the indicator after treatment in patients of group 1 ($p < 0.05$)

After 90 days of treatment with Bicyclol, the indicators of the state of the components of CT ECM liver in most parameters approached the normative values (Table 1).

In particular, in patients of group 2, a decrease in the content of PBOP in the blood by 1.8 times ($p < 0.05$) compared with pre-treatment, as well as a increase in the content of FOP after treatment by 1.5 times ($p < 0.05$), which indicates a decrease in the intensity of collagen abolism and enhancement

of collagen catabolism in ECM liver tissue. Significant changes in these indicators in the dynamics of treatment in patients of group 1 were not registered ($p > 0.05$). Initially reduced blood CLA in patients with NASH after treatment increased 1.5 times ($p < 0.05$) in patients of group 2, which indicates the probable activation of external (humoral, enzymatic, cytokine, etc.) mechanisms of regulation of CT metabolism under the influence of Bicyclol. Changes in the control

group after treatment relative to the content of POBP and CLA weren't significant ($p > 0.05$), at the same time, the concentration in the blood of FOP in patients of group 1 probably increased 1.2 times ($p < 0.05$), but the norm is not reached. We also found a corrective effect of Bicyclol on the metabolism of glycosaminoglycans: a decrease in the content of HA in group 2 by 1.5 times ($p < 0.05$) with the actual normalization of the indicator. In group 1, changes in HA content weren't significant ($p > 0.05$). In addition, we observed a

significant decrease after treatment of fucose levels in the blood: 1.5 and 2.0 times, respectively, in patients of groups 1 and 2 ($p_{1,2} < 0.05$).

Analysis of cytolytic syndrome activity indicates that before treatment alanine aminotransferase (ALT) increased activity (3.6 times, $p < 0.05$) – after treatment decreased in patients both groups: respectively 2.2 and 3, 7 times ($p < 0.05$) with the presence of a intergroup difference ($p < 0.05$) (Table 2).

Table 2 – Indicators of cytolysis activity of hepatocytes, steato-test and fibro-test in patients with non-alcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes mellitus with stage I–IV diabetic kidney disease in the dynamics of treatment (M ± m)

	Parameters	Groups of examined patients		
		Group 1 (n = 28)	Group 2 (n = 32)	Control group (n = 30)
Before treatment	ALT, mmol/L per hour	1.52 ± 0.17 *	1.51 ± 0.15 *	0.42 ± 0.03
	Steato test	0.75 ± 0.02 *	0.76 ± 0.02 *	0.19 ± 0.02
	Fibro test	0.56 ± 0.01 *	0.55 ± 0.01 *	0.17 ± 0.01
In 90 days	ALT, mmol/L per hour	0.69 ± 0.05 */**	0.41 ± 0.04 **/#	0.42 ± 0.03
	Steato test	0.61 ± 0.02 */**	0.42 ± 0.01 */**/#	0.19 ± 0.02
	Fibro test	0.50 ± 0.01 */**	0.33 ± 0.01 */**/#	0.17 ± 0.01

Note: * – the difference for examined patients versus control group ($p < 0.05$);

** – the difference in comparison with the baseline indicator ($p < 0.05$);

– the difference in comparison with the indicator after treatment in patients of group 1 ($p < 0.05$)

At the same time, the increased hepatocyte steatosis before treatment, which exceeded the reference values by 4.0 times ($p < 0.05$) – under the influence of treatment also significantly decreased in patients of 1 and 2 observation groups – 1.2 and 1.8 times, respectively ($p < 0.05$) with the presence of a significant intergroup difference ($p < 0.05$) (Table 2). Thus, significantly FibroTest increased before treatment (3.2 times, $p < 0.05$) in patients with NASH with comorbid diabetes and DKD in the dynamics of treatment in patients of group 1 decreased by 10.7% ($p < 0.05$), and in patients of group 2 – by 40.0% ($p < 0.05$) with the presence of a significant intergroup difference ($p < 0.05$). The data obtained indicate a favorable anti-inflammatory effect of Bicyclol, which is aimed at inhibiting and preventing liver fibrosis.

Discussion. The problem of comorbid NASH, DM2 and DKD is the rapid progression of all comorbid diseases, decompensation of carbohydrate

metabolism, development of hepatocellular and renal failure.

To determine the effect of bicyclol on the state of the connective tissue components of the extracellular matrix of the liver in the complex therapy of nonalcoholic steatohepatitis with liver fibrosis in patients with type 2 diabetes mellitus with diabetic nephropathy, the investigation was conducted in the treatment of 60 patients with nonalcoholic steatohepatitis with comorbid DM2 of moderate severity and stage I–IV DKD. Addition of Bicyclol to the complex therapy of NASH and DM2 with DKD for 3 months helped to eliminate the syndrome of cytolysis of hepatocytes, a significant reduction in steato-test and fibrotest, a reduction in the intensity of hepatic tissue fibrosis due to optimization of blood (protein-bound oxyproline), increasing the blood content of markers of collagen catabolism in the blood (free oxyproline) due to increased total collagenolytic activity of blood plasma, reducing the content of hexosamines and carbohydrate-protein

markers of fucoglycoprotein degradation in the blood. We investigated that the activated processes of collagen synthesis are accompanied by inhibition of its degradation with accumulation in ECM. We also found a significant increase in the content of HA in the blood by 1.5 times ($p < 0.05$) and accelerated degradation of carbohydrate-protein components of the matrix (with an increase in the content of fucose, not bound to protein, 2.6 times, ($p < 0.05$)).

The results of the study of the content of connective tissue metabolic products in patients with NASH, DM2 with stage I–IV DKD in the dynamics

of treatment showed that traditional treatment with essential phospholipids and Bicyclol actively affect and during 90 days of treatment the main components of the pathological process in the liver in NASH – cytolysis and fatty degeneration of hepatocytes, but Bicyclol in the complex hypoglycemic and hypolipidemic therapy has a more intense effect. It should also be noted that the effect of traditional therapy and liver fibrosis activity, according to previous studies, was significantly lower than the proposed therapy with Bicyclol.

Conclusions/Висновки

Combination therapy with metformin, rosuvastatin, Bicyclol in individuals with comorbid nonalcoholic steatohepatitis, type 2 diabetes mellitus and diabetic kidney disease for 3 months helped to eliminate the syndrome of cytolysis of hepatocytes, a significant reduction in fiatoma spectrum of

connective tissue components of the extracellular matrix in the blood with a decrease in the content of markers of collagen anabolism, increase in the content of markers of collagen catabolism due to increased total collagenolytic activity of blood plasma, decrease in the content of hexosamines and carbohydrate protein markers.

Prospects for future research/Перспективи подальших досліджень

The prospect of our further research in this direction is an establishment of other pleiotropic effects of Bicyclol under the conditions of complex treatment of various comorbid pathologies against the background of non-alcoholic steatohepatitis.

References/Список літератури

1. Babak OYa, Kolesnikova YeV, Sytnik KA. The effect of bicyclol on the dynamics of cytolytic syndrome in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Suchasna gastroenterologiya*. 2013;4(72):18-22.
2. Ivashkin VT, Mayevskaya MV, Zharkova MS i dr. Algorithm and diagnostics of treatment in gastroenterology M.: MEDpress-inform; 2016. 176 s.
<https://www.rsls.ru/files/news/Present2208.pdf>
3. Pirogova IYu, Yakovleva SV, Neuymina TV i dr. Efficacy and safety of bicyclol in nonalcoholic fatty liver disease: results of a cohort study. *Ros. zhurnal gastroenterologii, gepatol, koloproktologii*. 2018;28(4):66-75. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2018-28-4-66-75>.
4. Khukhlina OS, Antoniv AA, Mandryk OYe, Hrynyuk OYe. *Non-alcoholic fatty liver disease and comorbid conditions: features of pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment*. Chernivtsi, 2017. 188 s.
5. Khukhlina OS, Antoniv AA, Kuz'mins'ka OB. Intensity of fibrosis in the liver and patients with non-alcoholic steatohepatitis on the background of obesity I-II degrees and chronic kidney disease. *Zdobutky klinichnoyi i eksperymental'noyi medytsyny*. 2018; (2 (34)): 147–151.
6. Khukhlina OS, Antoniv AA. *Non-alcoholic fatty liver disease and chronic kidney disease: pathogenesis of mutual burden, clinical features, diagnosis, prognosis*. Chernivtsi, 2019. 192p.
7. Antoniv AA. Changes in extracellular matrix components metabolism in patients with nonalcoholic steatohepatitis on the background of obesity and comorbidity with chronic kidney disease. *Ukr. zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu*. 2018; 3 (7 (16)): 69–73.
8. Shang W, Feng Y, Li J et al. Effect of bicyclol tablets on drug induced liver injuries after kidney transplantation. *Open Medicine*. 2017;12(1):62–69. doi: 10.1515/med-2017-0012.
9. Radchenko OM, Khukhlina OS, Antoniv AA, Mandryk OYe, Hrynyuk OYe, Kotsiubiichuk ZYa, Antofychuk TM. *Hepatoprotectors*. Monohrafiya. Za red. prof. Radchenko OM, Khukhlinoyi OS. Chernivtsi, 2021. 388 s.



10. Khukhlina OS, Antoniv AA, Mandryk OYe. Effect of glycyrrhizin in combination with glycine and methionine on the state of extracellular matrix components on the intensity of liver fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis in comorbidity with chronic kidney disease. *Suchasna gastroenterologiya*. 2017. № 5 (97). S. 29–35. http://nbuv.gov.ua/UJRN/SGastro_2017_5_7.
11. Cui J, Li Z, Qian L et al. Reducing the oxidative stress mediates the cardioprotection of bicyclol against ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2013;14(6):487–495. doi: 10.1631/jzus.B1200263
12. Mayevskaya MV, Lunkov VD, Geyvandova NI et al. Bicyclol in the treatment of patients with chronic diffuse liver diseases. *Meditinskiy sovet - Medical Council*. 2020; (15): 42–53.
13. Golubovskaya OA, Merkulova YuV, Nosal'skaya TN. Bicyclol. The mechanism of realization of clinical effect. Pharmacodynamics. Clinical pharmacology. *Obzor mnogotsentrovnykh klinicheskikh issledovaniy Farmakodinamika. Klinicheskaya farmakologiya. Obzor mnogotsentrovnykh klinicheskikh issledovaniy*. Kiyev, 2015. 61s. [http://bicyclol.com/wp-](http://bicyclol.com/wp-content/uploads/Bicyclol-Golubovskaya-O.A.pdf)
14. Xie W, Shi G, Zhang H. et al. A randomized, multicenter, controlled study of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B treated by adefovir dipivoxil or adefovir dipivoxil plus bicyclol. *Hepatol Int*. 2012;6(2):441–448. doi: 10.1007/s12072-011-9294-7.
15. Zhang Y, Xie Y, Zhang Y et al. Hepatitis B patients exhibiting mild alanine aminotransferase elevation: A comparative analysis of treatment with and without Bicyclol tablets. *Biomed Rep*. 2016; 5(5):595–600. doi: 10.3892/br.2016.765.
16. Naqiong W, Liansheng W, Zhanying H et al. A Multicenter and Randomized Controlled Trial of Bicyclol in the Treatment of Statin-Induced Liver Injury. *Med Sci Monit*. 2017;23:5760–5766. doi: 10.12659/msm.904090
17. Wang Y, Nie H, Zhao X. et al. Bicyclol induces cell cycle arrest and autophagy in HepG2 human hepatocellular carcinoma cells through the PI3K/AKT and Ras/Raf/MEK/ERK pathways. *BMC Cancer*. 2016;16:742. doi: 10.1186/s12885-016-2767-2.

(received 22.09.2021, published online 29.12.2021)

(одержано 22.09.2021, опубліковано 29.12.2021)

Conflict of interest/Конфлікт інтересів

The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors/Відомості про авторів

Коцюбійчук Зоряна Ярославівна – асистент кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Хухліна Оксана Святославівна – д-р. мед. наук, професор, завідувач кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Антонів Альона Андріївна – док. мед. наук, професор кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Рошук Олександра Ігорівна – к-т. мед. наук, асистент кафедри ортопедичної стоматології, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Мандрик Ольга Євгенівна – к-т. мед. наук, асистент кафедри внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Гарвасюк Олександра Василівна – к-т. мед. наук, асистент кафедри патологічної анатомії, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці, Україна, 58002.

Наукове видання
Науковий журнал

EASTERN UKRAINIAN MEDICAL JOURNAL

e-mail: eumj@med.sumdu.edu.ua

<http://eumj.med.sumdu.edu.ua>

Стиль та орфографія авторів збережені

Технічний редактор – Коваль М. В.

Комп'ютерне складання та верстання – Красько Н. А.

Художник-оформлювач – Коваль М. В.

Підписано до друку 29.12.2021. Формат 60х84/8

Папір офс. Друк офс.

Ум. друк. арк. 15,11.

Наклад 100 пр. Замовлення № _____

Сумський державний університет, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007.

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру
ДК № 3062 від 17.12.2007.

Надруковано у друкарні СумДУ
Вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007.