

# Запорожский медицинский журнал



Том 21, № 6(117), ноябрь – декабрь 2019 г.

## Редакционная коллегия

Главный редактор – проф. Ю.М. Колесник  
Зам. гл. редактора – проф. В.А. Визир  
Ответственный секретарь – проф. В.В. Сыволап

проф. А.В. Абрамов (Запорожье)  
проф. М.Н. Алёхин (Москва, Россия)  
академик НАМН Украины, проф. М.А. Андрейчин (Тернополь)  
проф. И.Ф. Беленичев (Запорожье)  
проф. И.Н. Бондаренко (Днепро)  
проф. Маргус Виигимаа (Таллин, Эстония)  
проф. М.Л. Головаха (Запорожье)  
проф. М.Н. Долженко (Киев)  
проф. Н.Г. Завгородняя (Запорожье)  
акад. НАМН Украины, проф. В.Н. Запорожан (Одесса)  
проф. Луциуш Запрукто (Познань, Польша)  
проф. Марек Зентек (Вроцлав, Польша)  
проф. А.Г. Каплаушенко (Запорожье)  
проф. В.Н. Клименко (Запорожье)  
акад. НАМН Украины, проф. В.Н. Коваленко (Киев)  
проф. С.И. Коваленко (Запорожье)  
проф. С.Н. Коваль (Харьков)  
проф. А.А. Козёлкин (Запорожье)  
проф. Н.А. Корж (Харьков)  
чл.-кор. НАН, акад. НАМН Украины О.В. Коркушко (Киев)  
проф. Г.А. Леженко (Запорожье)  
чл.-кор. НАМН Украины, проф. В.Н. Лисовой (Харьков)  
проф. И.А. Мазур (Запорожье)  
проф. Кшиштоф Наркевич (Гданьск, Польша)  
проф. С.Н. Недельская (Запорожье)  
чл.-кор. НАМН Украины, проф. В.З. Нетяженко (Киев)  
акад. НАМН, чл.-кор. НАН Украины, проф. А.С. Никоненко  
проф. Петер Нильссон (Мальмё, Швеция)  
проф. Дженнаро Пагано (Неаполь, Италия)  
проф. А.И. Панасенко (Запорожье)  
чл.-кор. НАМН Украины, проф. Т.А. Перцева (Днепро)  
проф. Ю.М. Степанов (Днепро)  
проф. В.Д. Сыволап (Запорожье)  
проф. В.А. Туманский (Запорожье)  
проф. Генриетта Фаркаш (Будапешт, Венгрия)  
акад. НАМН Украины, проф. Ю.И. Фещенко (Киев)  
проф. Свапандип Сингх Чимни (Амритсар, Индия)  
проф. Яцек Шепетовски (Вроцлав, Польша)

## Editorial Board

Editor-in-Chief – Yu.M. Kolesnyk  
Deputy Editor-in-Chief – V.A. Vizir  
Executive secretary – V.V. Syvolap

A.V. Abramov (Zaporizhzhia, Ukraine)  
M.N. Alekhin (Moscow, Russia)  
M.A. Andreichyn (Ternopil, Ukraine)  
I.F. Bielenichev (Zaporizhzhia, Ukraine)  
I.M. Bondarenko (Dnipro, Ukraine)  
Swapandeep Singh Chimni (Amritsar, India)  
M.N. Dolzhenko (Kyiv, Ukraine)  
Henriette Farkas (Budapest, Hungary)  
Yu.I. Feshchenko (Kyiv, Ukraine)  
M.L. Holovakha (Zaporizhzhia, Ukraine)  
A.H. Kaplaushenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
V.M. Klymenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
O.V. Korkushko (Kyiv, Ukraine)  
N.A. Korzh (Kharkiv, Ukraine)  
S.M. Koval (Kharkiv, Ukraine)  
S.I. Kovalenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
V.M. Kovalenko (Kyiv, Ukraine)  
O.A. Koziolkin (Zaporizhzhia, Ukraine)  
H.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
V.M. Lisovyi (Kharkiv, Ukraine)  
I.A. Mazur (Zaporizhzhia, Ukraine)  
Krzysztof Narkiewicz (Gdansk, Poland)  
S.M. Nedelska (Zaporizhzhia, Ukraine)  
V.Z. Netiazhenko (Kyiv, Ukraine)  
Peter M. Nilsson (Malmö, Sweden)  
O.S. Nykonenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
Gennaro Pagano (Naple, Italy)  
O.I. Panasenko (Zaporizhzhia, Ukraine)  
T.O. Pertseva (Dnipro, Ukraine)  
Yu.M. Stepanov (Dnipro, Ukraine)  
V.D. Syvolap (Zaporizhzhia, Ukraine)  
Jacek Szepietowski (Wroclaw, Poland)  
V.O. Tumanskyi (Zaporizhzhia, Ukraine)  
Margus Viigimaa (Tallinn, Estonia)  
V.M. Zaporozhan (Odesa, Ukraine)  
Lucjusz Zaprutko (Poznan, Poland)  
N.H. Zavorodnia (Zaporizhzhia, Ukraine)  
Marek Ziętek (Wroclaw, Poland)

Научно-практический журнал  
Запорожского государственного  
медицинского университета

Издаётся с сентября 1999 года.  
Периодичность выхода –  
1 раз в два месяца.  
Свидетельство о регистрации  
КВ №20603-10403ПР  
от 27.02.2014 г.  
Подписной индекс – 90253.

**Аттестован** как научное профессиональное издание Украины категории «А», в котором могут публиковаться результаты диссертационных работ на соискание учёных степеней доктора и кандидата наук в области медицинских и фармацевтических наук, специальности 221, 222, 226, 228 (приказ Министерства образования и науки Украины № 1301 от 15.10.2019 г.)

Журнал включён в  
**WEB OF SCIENCE™**  
и другие международные наукометрические базы данных. Статьи рецензируются по процедуре Double-blind.

Лицензия Creative Commons



**Рекомендован к печати**  
Учёным советом ЗГМУ,  
протокол № 4 от 26.11.2019 г.  
Подписан в печать  
27.11.2019 г.

**Редакция:**  
Начальник редакционно-издательского отдела  
В. Н. Миклашевский  
Литературный редактор  
О. С. Савеленко  
Технический редактор  
Ю. В. Полупан

**Адрес редакции и издателя:**  
Украина, 69035, г. Запорожье,  
пр. Маяковского, 26, ЗГМУ,  
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua  
http://zmj.zsmu.edu.ua

**Отпечатан**  
в типографии ООО «Х-ПРЕСС».  
69068, г. Запорожье,  
ул. Круговая, д. 165/18,  
тел. (061) 220-42-29.  
Свидетельство о госрегистрации  
АОО №198468 от 01.07.1999 г.  
Формат 60x84/8.  
☉ Бумага мелованная,  
бескислотная. Усл. печат. л. 6.  
Тираж 200 экз. Зак. № 11/19.

## Zaporozhye Medical Journal

Volume 21 No. 6 November – December 2019

Scientific Medical Journal. Established in September 1999  
Zaporizhzhia State Medical University  
Submit papers are peer-reviewed

Maiakovskiy Avenue, 26,  
Zaporizhzhia, 69035,  
UKRAINE  
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua  
http://zmj.zsmu.edu.ua

## Оригинальные исследования

**Коваленко В. М., Василенко В. А., Потабашній В. А., Василенко А. М.**

Вплив антиретровірусної терапії на частоту та вираженість надшлуночкових і шлуночкових порушень ритму серця у ВІЛ-інфікованих пацієнтів

**Білово О. М., Князькова І. І., Богун М. В., Міщенко В. М.**

Лікування порушень сну в пацієнтів з артеріальною гіпертензією та ожирінням

**Шумна Т. Є., Федосєєва О. С., Зінченко Т. П., Недельська С. М., Возний О. В., Камишний О. М.**

Характеристика поліморфізму гена інтерлейкіну-4 (С-589Т, rs2243250) у дітей із бронхіальною астмою, алергічним ринітом і з ортодонтичною патологією, яка ізольована чи коморбідна з алергічним ринітом

**Фещенко Ю. І., Гуменюк Г. Л., Гуменюк М. І., Зайков С. В., Рекалова О. М., Опімах С. Г.**

Порушення легеневої вентиляції у хворих на бронхіальну астму з ожирінням

**Десятерик В. І., Мальцев Д. В., Крикун М. С., Шаповалюк В. В., Шкура М. М.**

Імунологічні можливості діагностики та прогнозування розвитку асептичних та інфікованих місцевих ускладнень гострого панкреатиту

**Котенко О. Г., Мініч А. А.**

Особливості трансплантації правої долі печінки від живого родинного донора

**Волкогон А. Д., Чумаченко Я. Д., Гарбузова В. Ю., Атаман О. В.**

Аналіз зв'язку rs1899663-поліморфізму гена *HOTAIR* із розвитком раку сечового міхура в українській популяції

**Шевченко А. О., Круть Ю. Я.**

Оцінювання факторів ризику та сучасні можливості прогнозування передчасних пологів

**Горбатюк О. Г., Шатковська А. С., Григоренко А. П., Васків О. В., Бец І. О., Кустовська І. М., Петраш А. І., Палагнюк М. Г.**

Особливості порушень репродуктивного здоров'я жінок, що пов'язані з тривалими стресовими ситуаціями

**Айзятупова Е. М.**

Вторинні предиктори розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників

**Поворозник В. В., Бистрицька М. А., Григор'єва Н. В.**

Мінеральна щільність кісткової тканини й низькоенергетичні переломи в пацієнтів після інсульту

**Лоскутов А. Е., Ковбаса Е. А., Олейник А. Е., Сtryженый В. Г., Лоскутов О. А., Фурманова К. С.**

Предоперационная оценка костного массива медиальной стенки вертлужной впадины в условиях диспластической деформации

## Original research

**710 Kovalenko V. M., Vasilenko V. A., Potabashnii V. A., Vasilenko A. M.**

The effect of antiretroviral therapy on the frequency and severity of cardiac arrhythmias in HIV-infected patients

**717 Bilovol O. M., Kniatkova I. I., Bohun M. V., Mishchenko V. M.**

Treatment of sleep disorders in patients with hypertension and obesity

**723 Shumna T. Ye., Fedosieieva O. S., Zinchenko T. P., Nedelska S. M., Voznyi O. V., Kamyshnyi O. M.**

Characteristics of interleukin-4 gene (C-589T, rs2243250) polymorphism in children with bronchial asthma and allergic rhinitis with isolated or allergic rhinitis-induced comorbid malocclusion

**733 Feshchenko Yu. I., Gumeniuk G. L., Gumeniuk M. I., Zaikov S. V., Rekalova O. M., Opimakh S. H.**

Lung ventilation impairment in asthma patients with obesity

**739 Desiateryk V. I., Maltsev D. V., Krykun M. S., Shapovalyuk V. V., Shkura M. M.**

Immunological possibilities of diagnostics and prognosis of aseptic and infected local complications of acute pancreatitis development

**744 Kotenko O. H., Minich A. A.**

Features of right lobe liver transplantation from living related donor

**751 Volkohon A. D., Chumachenko Ya. D., Harbuzova V. Yu., Ataman O. V.**

Association analysis between rs1899663 *HOTAIR* gene polymorphism and bladder cancer development in Ukrainian population

**759 Shevchenko A. O., Krut Yu. Ya.**

Evaluation of risk factors and modern possibilities for prediction of preterm labour

**764 Horbatiuk O. H., Shatkovska A. S., Hryhorenko A. P., Vaskiv O. V., Bets I. O., Kustovska I. M., Petraш A. I., Palahniuk M. H.**

Features of women's reproductive dysfunctions associated with prolonged stressful situations

**770 Aiziatulova E. M.**

Secondary predictors of ovarian hyperstimulation syndrome development

**776 Povorozniuk V. V., Bystrytska M. A., Hryhorieva N. V.**

Bone mineral density and fragility fractures in stroke patients

**783 Loskutov O. Ye., Kovbasa O. O., Oliinyk O. Ye., Stryzhenyi V. H., Loskutov O. O., Furmanova K. S.**

Preoperative assessment of medial acetabular wall bone stock in dysplastic deformation

## Оригинальные исследования

**Возний О. В., Янишен І. В., Дюдiна І. Л., Томiлiн В. Г.,  
Погорiла А. В.**

Клінічне випробування методу захисту рецепторного апарату зубів на етапах лікування незнімними конструкціями протезів

**Цепколенко Г. В.**

Клініко-імунологічна ефективність корекції вікових змін шкіри шляхом застосування неофіброліфтингу

**Костицький В. В., Сидор В. Д.,  
Костицька І. О.**

Правове забезпечення використання природних лікувальних ресурсів у санаторно-курортному лікуванні населення

**Євтушенко В. В., Крамарьов С. О., Шадрiн В. О., Марков А. І.,  
Камiнська Т. М., Гречуха Є. О.**

Клінічні та епідеміологічні особливості кору в госпіталізованих дітей під час двох спалахів (2005–2006 і 2017–2018 років) в Україні

**Бєленiчев І. Ф., Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Акопян Р. Р.,  
Хромiльова О. В., Павлюк І. В.**

Експериментальне оцінювання специфічної активності нової лікарської форми Ангiолiн в умовах хімічного опіку рогівки

**Смирнов А. С., Мірзебасов М. А.,  
Смирнов С. М.**

Стан ворсин слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за умов дії епіхлоргiдрину та медикаментозних препаратів

**Книш О. В.**

Вплив безклітинних екстрактів, що отримані з пробіотичних штамів *Bifidobacterium bifidum* та *Lactobacillus reuteri*, на проліферацію та біоплівкоутворення *Lactobacillus reuteri in vitro*

## Обзоры

**Лемко О. І., Лукашук С. В.**

Рекурентні респіраторні захворювання у практиці сімейного лікаря та педіатра: основні питання (огляд літератури)

**Мар'єнко Л. Б., Мар'єнко К. М.**

Раптова несподівана смерть при епілепсії: огляд літератури та власні спостереження

## Клинический случай

**Трищинська М. А., Свистильник В. О.**

Клінічний випадок синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2

**Танцюра Л. Д., Киселева І. В., Бєляев А. В., Орел В. В.,  
Трикаш Н. В., Скляр В. Н., Колосова І. М.**

Позитивний неврологічний результат у ребенка после внутригоспитальной остановки сердца

## Original research

**790 Voznyi O. V., Yanishen I. V., Diudina I. L., Tomilin V. H.,  
Pohorila A. V.**

Clinical study of a method for the receptor apparatus of the teeth protection at the stages of treatment with non-removable prosthesis designs

**795 Tsepkoenko H. V.**

Clinico-immunological efficiency of age-related skin changes correction by neofibrolifting

**802 Kostytsky V. V., Sydor V. D.,  
Kostytska I. O.**

Legal support for the use of natural therapeutic resources in sanatorium and resort treatment of the population

**808 Yevtushenko V. V., Kramarov S. O., Shadrin V. O., Markov A. I.,  
Kaminska T. M., Hrechukha Ye. O.**

Clinical and epidemiological features of measles in children hospitalized during two outbreaks (2005–2006 and 2017–2018) in Ukraine

**815 Bielenichev I. F., Kucherenko L. I., Mazur I. A., Akopian R. R.,  
Khromylova O. V., Pavliuk I. V.**

Experimental evaluation of the specific activity of the new Angiolin dosage form in the research corneal burn's condition

**820 Smirnov A. S., Mirzebasov M. A.,  
Smirnov S. M.**

The state of the duodenal villi in rats under epichlorohydrin and drugs influence

**828 Knysh O. V.**

The effects of cell-free extracts derived from probiotic strains *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri* on the proliferation and biofilm formation by *Lactobacillus reuteri in vitro*

## Review

**835 Lemko O. I., Lukashchuk S. V.**

Recurrent respiratory diseases in practice of family physician and pediatrician: main issues (a literature review)

**843 Marienko L. B., Marienko K. M.**

Sudden unexpected death in epilepsy: a review of literature and own observations

## Case report

**853 Trishchynska M. A., Svystilnyk V. O.**

A case report of PRRT2 mutation-associated familial convulsions with paroxysmal choreoathetosis syndrome

**860 Tantsiura L. D., Kyselova I. V., Biliaiev A. V., Orel V. V.,  
Trykash M. V., Skliar V. M., Kolosova I. M.**

Positive neurologic outcome in a child after in-hospital cardiac arrest

# The effect of antiretroviral therapy on the frequency and severity of cardiac arrhythmias in HIV-infected patients

V. M. Kovalenko<sup>\*1,A,E,F</sup>, V. A. Vasylenko<sup>2,A-D</sup>, V. A. Potabashnij<sup>2,A,E,F</sup>, A. M. Vasylenko<sup>2,E,F</sup>

<sup>1</sup>SI "National scientific center "M. D. Strazhesko Institute of Cardiology" NAMS of Ukraine, Kyiv, <sup>2</sup>SI "Dnipropetrovsk Medical Academy Ministry of Health Ukraine", Kryvyi Rih

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

## Key words:

HIV-infection, antiretroviral therapy, ambulatory monitoring ECG, atrial premature complexes, heart rhythm variability, C-reactive protein.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (6), 710–716

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186465

\*E-mail: support@example.com

**The aim** to study the effects of ART on the incidence and severity of supraventricular ectopy (SVE) and ventricular ectopy (VE) in HIV-infected patients.

**Materials and methods.** We analyzed the results of ambulatory monitoring ECG (AM ECG) in 43 HIV-infected patients before and after antiretroviral therapy (ART). The amount of serum high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) was determined in all patients.

**Results.** In all patients before prescribing ART and one year after ART, SVE was registered with varying severity, whereas VE was registered in 28 (93.3 %) patients of the control group. VE was detected in 31 (72.1 %) patients before prescribing ART, 27 (62.5 %) patients after a year of receiving ART and 6 (20 %) patients in the control group.

After analyzing the structure of SVE and VE, it was noted that in HIV-infected patients before ART, a greater number of SVE and VE was recorded, which were significantly decreased when the virological and immunological goals of ART were achieved. Patients showed an increase in the SDNN index to  $148.3 \pm 11.2$  ms and SDANN to  $133.3 \pm 8.3$  ms after effective ART.

There were not significant changes in other time-domain heart rhythm variability (HRV) indicators (SDNN, SDNN-index, pNN50 and rMSSD) in this group. A decrease in the frequency and severity of SVE and VE as well as HRV profile improvement were registered with a decrease in the concentration of highly sensitive CRP from  $19.1 \pm 2.2$  mg/l to  $10.7 \pm 1.3$  mg/l ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions.** In HIV-infected patients, both supraventricular and ventricular ectopy are more pronounced and significantly more frequently recorded, including ectopic rhythms which are not peculiar to healthy people. In HIV-infected patients on antiretroviral therapy for  $52 \pm 4$  weeks when viral load  $< 20$  copies/ml and CD4+ T lymphocytes  $> 400$  cells/ml are reached, the frequency of supraventricular and ventricular ectopy registration is significantly decreased.

In HIV-infected patients, a decrease in supraventricular ectopy and ventricular ectopy intensity occurs coupled with a decrease in the level of hsCRP, as well as an improvement in the integral time and spectral indices of heart rate variability. This suggests that systemic inflammatory response and hypersympathicotonia are pathogenetic links of arrhythmogenesis in HIV-infected patients.

## Ключові слова:

ВІЛ-інфекція, антиретровірусна терапія, амбулаторне монітування ЕКГ, екстрасистола передсердна, варіабельність серцевого ритму, С-реактивний протеїн.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 710–716

## Вплив антиретровірусної терапії на частоту та вираженість надшлуночкових і шлуночкових порушень ритму серця у ВІЛ-інфікованих пацієнтів

В. М. Коваленко, В. А. Василенко, В. А. Потабашній, А. М. Василенко

**Мета роботи** – вивчити вплив антиретровірусної терапії (АРТ) на частоту й вираженість суправентрикулярної (СВЕ) і шлуночкової ектопії (ШЕ) у ВІЛ-інфікованих пацієнтів.

**Матеріали та методи.** Проаналізували результати амбулаторного монітування ЕКГ (АМ ЕКГ) у 43 ВІЛ-інфікованих пацієнтів до та після призначення АРТ. У всіх пацієнтів визначили рівень високочутливого С-реактивного протеїну (вСРП) сироватки крові.

**Результати.** У всіх пацієнтів до призначення АРТ і через рік приймання АРТ зареєстрована СВЕ різного ступеня вираженості, тоді як у контрольній групі СВЕ – у 28 осіб (93,3 %). Шлуночкову ектопію виявили у 31 (72,1 %) пацієнта до приймання АРТ, 27 (62,5 %) пацієнтів – після приймання і в 6 (20 %) осіб контрольної групи.

Проаналізувавши структуру СВЕ та ШЕ, відзначили, що у ВІЛ-інфікованих пацієнтів до АРТ реєструється більше і СВЕ, і ШЕ, котрі істотно зменшуються при досягненні вірусологічних та імунологічних цілей АРТ. На тлі ефективної АРТ у пацієнтів після АРТ відзначено збільшення показника SDNN до  $148,3 \pm 11,2$  мсек і SDANN – до  $133,3 \pm 8,3$  мсек. Істотної зміни інших часових показників варіабельності серцевого ритму (BCP) (SDNN-index, pNN50 і rMSSD) у цій групі не виявили. Зменшення частоти та вираженості СВЕ та ШЕ, а також поліпшення профілю BCP зареєстровані на тлі зниження концентрації вСРП із  $19,1 \pm 2,2$  мг/л до  $10,7 \pm 1,3$  мг/л ( $p < 0,05$ ).

**Висновки.** У ВІЛ-інфікованих пацієнтів вірогідно частіше реєструється та значно виражена суправентрикулярна та шлуночкова ектопія, зокрема й ектопічні ритми, нехарактерні для здорових. У ВІЛ-інфікованих пацієнтів на тлі АРТ протягом  $52 \pm 4$  тижнів при досягненні вірусного навантаження  $< 20$  копій/мл і CD4+ Т-лімфоцити  $> 400$  кл/мл частота реєстрації кількості суправентрикулярних і шлуночкових ектопій вірогідно знижується.

У ВІЛ-інфікованих пацієнтів зменшення вираженості СВЕ та ШЕ відбувається на тлі зниження рівня вСРП, а також поліпшення інтегральних часових і спектральних показників варіабельності серцевого ритму. Це дає підстави вважати, що системна запальна відповідь і гіперсимпатикотонія є патогенетичними ланками аритмогенезу у ВІЛ-інфікованих пацієнтів.

## Влияние антиретровирусной терапии на частоту и выраженность нарушений ритма сердца у ВИЧ-инфицированных пациентов

В. Н. Коваленко, В. А. Василенко, В. А. Потабашний, А. М. Василенко

**Цель работы** – изучить влияние антиретровирусной терапии (АРТ) на частоту и выраженность суправентрикулярной (СВЭ) и желудочковой эктопии (ЖЭ) у ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Материалы и методы.** Проанализировали результаты амбулаторного мониторинга ЭКГ (АМ ЭКГ) у 43 ВИЧ-инфицированных пациентов до и после назначения АРТ. У всех пациентов определяли уровень высокочувствительного С-реактивного протеина (вЧСРП) сыворотки крови.

**Результаты.** У всех пациентов до назначения АРТ и через год приема АРТ зарегистрирована СВЭ разной степени выраженности, тогда как в контрольной группе СВЭ зарегистрирована у 28 человек (93,3 %). ЖЭ установлена у 31 (72,1 %) пациентов до АРТ, 27 (62,5 %) пациентов после АРТ и 6 (20 %) человек контрольной группы. Проанализировав структуру СВЭ и ЖЭ, отмечено, что у ВИЧ-инфицированных пациентов до АРТ регистрируется большее количество как СВЭ, так и ЖЭ, которые существенно уменьшаются при достижении вирусологической и иммунологической целей АРТ.

На фоне эффективной АРТ у пациентов после приема зафиксировано увеличение показателя SDNN до  $148,3 \pm 11,2$  мсек и SDANN до  $133,3 \pm 8,3$  мсек. Существенного изменения других временных показателей вариабельности сердечного ритма (BCP) (SDNN-index, pNN50 и rMSSD) в этой группе не отмечено. Уменьшение частоты и выраженности СВЭ и ЖЭ, а также улучшение профиля BCP зарегистрированы на фоне снижения концентрации вЧСРП с  $19,1 \pm 2,2$  мг/л до  $10,7 \pm 1,3$  мг/л ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** У ВИЧ-инфицированных пациентов достоверно чаще регистрируется и более выражена суправентрикулярная и желудочковая эктопия, в том числе эктопические ритмы, не характерные для здоровых. У ВИЧ-инфицированных пациентов на фоне АРТ в течение 52 ± 4 недели при достижении вирусной нагрузки <20 копий/мл и CD4+ Т-лимфоциты >400 кл/мл частота регистрации количества СВЭ и ЖЭ достоверно снижается. У ВИЧ-инфицированных пациентов уменьшение выраженности СВЭ и ЖЭ происходит на фоне снижения уровня вЧСРП, а также улучшения интегральных временных и спектральных показателей вариабельности сердечного ритма. Это дает основания считать, что системный воспалительный ответ и гиперсимпатикотония являются патогенетическими звеньями аритмогенеза у ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, антиретровирусная терапия, амбулаторное мониторирование ЭКГ, экстрасистола предсердная, вариабельность сердечного ритма, С-реактивный протеин.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 710–716

HIV-infected patients have a higher risk of developing cardiovascular disease [7,10]. In comparison with the general population, these patients in 4.5 times more often to have sudden cardiac death caused by anamnesis of myocardial infarction, cardiomyopathy, heart failure, and ventricular arrhythmias [11,12]. Cardiovascular abnormalities are common in HIV-infected individuals but often go unrecognized or untreated which results in increased cardiovascular-related morbidity and mortality and reduced quality of life. Clinicians may mistakenly attribute signs of cardiovascular abnormalities to pulmonary or infectious causes, an error that can delay appropriate treatment [9]. Despite the fact that the majority of HIV-infected patients die from AIDS-related diseases, sudden arrhythmic death is a significant risk factor for mortality in HIV-infected patients [2,8,11,12].

Electrocardiographic abnormalities are more commonly found in HIV-infected patients compared with HIV-negative patients. Disturbances of intraventricular conduction, isolated changes of the ST segment and T wave as well as QT interval prolongation were found in 8 % of HIV-positive patients resulting in a 2-fold increase in cardiovascular events in this category of patients. In most cases, ECG changes were reversible during antiretroviral therapy (ART). This may indicate that due to the high viral load (VL) and low CD4+ T lymphocytes count, these patients had ECG signs of myocarditis (HIV-associated) a frequency of which decreased in the context of ART [6].

The incidence of atrial fibrillation (AF) in HIV-infected individuals is 3.6 cases per 1000 person-years (95 % CI: 3.4–3.9) [3]. In 780 (2.6 %) of the 30,000 HIV-infected patients observed, permanent AF developed within 15 years of follow-up. Often, in HIV-infected individuals, a decrease in CD 4+ and an increase in VL are independent risk factors for AF

development. A possible pathogenetic mechanism linking AF and HIV infection is systemic inflammation [5].

Currently, there are few reports in the literature about the effect of ART on the frequency and severity of cardiac arrhythmias in HIV – infected patients, which formed the basis for our study.

### Purpose of the study

To study the effects of ART on the incidence and severity of supraventricular ectopy (SVE) and ventricular ectopy (VE) in HIV-infected patients.

### Materials and methods

The work was performed in RCI “Kryvyi Rih Center for Prevention and Control of AIDS” during the period from 2016 to 2018. We analyzed the results of ambulatory ECG monitoring (AM ECG) in 43 HIV-infected patients registered in this medical institution before and after initiation of ART who achieved an undetectable level of VL (less than 20 copies/ml) and the immunological goal of increasing CD4 count >400 cells/ml. Heart rate variability (HRV) indices and serum levels of high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) were evaluated in all the examined patients.

CD4+ T-lymphocytes count was determined by flow cytometry using an automated biochemical analyzer Random Access A-15, BioSystems S.A.

Plasma concentration of hsCRP was measured by a latex particle enhanced immunoturbidimetric assay on a Roche Cobas c311 chemistry analyzer (Roche Diagnostics) which allows determining hsCRP level in the range of 1.00–250 mg/l.

The AM ECG was performed using the DX-AKM-03 ArNika hardware and software complex (Kharkiv). HRV was analyzed by the following time-domain indicators: the standard deviation of total normal R-R intervals during the 24-hour period (SDNN, ms); the mean of the standard deviations of all normal R-R intervals for all 5-min segments during the 24-hour period (SDNN index, ms); root mean square differences of the standard deviation during the 24-hour period (rMSSD, ms); percentage of beats that changed more than 50 ms from the previous beat (pNN50, %). The spectral indices of HRV were also analyzed: high-frequency component (HF, %), low frequency component (LF, %) and the low frequency to high frequency component ratio (LF/HF). These indicators were chosen based on their informativity reflecting the influence of both sympathetic and parasympathetic nervous system on HRV [9].

Patients were compared before and after receiving ART:

– 43 HIV + patients before ART initiation.

– 43 HIV + patients received ART during 1 year (52 ± 4 weeks): 32 people (74.4 %) nevirapine (NVP)/zidovudine (AZT)/lamivudine (3TC), 11 people (25.6 %) – nelfinavir (NFV)/zidovudine (AZT)/lamivudine (3TC) and achieved CD4+ count more than 400 cells per ml and VL <20 copies/ml.

The re-examination interval was caused by the fact that longer ART in HIV-infected patients increases significantly the risk of developing coronary heart disease (CHD). In such patients, cardiac arrhythmias can be a manifestation of CHD and its complications [1,4,7].

– the control group consisted of 30 practically healthy individuals, matched by sex, age, body mass index. HIV-negative status of these people was confirmed by a screening test for detecting HIV antibodies produced by Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd, cat. No. WJ-1810E.

The inclusion criteria were: age ≥30 years, palpitations, stage I-III of HIV, VL < 100000 copies/ml; CD4+ T-lymphocytes count <400 cells/ml.

The exclusion criteria were: CD4+ T-lymphocytes count <200 cells/ml, VL >100,000 copies/ml; patients with drug addiction and alcoholism, acute inflammatory process, active tuberculosis and viral hepatitis B, C, thyroid gland pathology.

Clinical and demographic characteristics of the examined patients are presented in *Table 1*.

For statistical analysis of quantitative trait differences, a parametric Student's t-test for signs with a normal distribution pattern and Mann-Whitney non-parametric test for signs that differ from the normal distribution pattern, checking equality of group variances using Fisher's exact (one-sided) test in four-field tables were used. Statistical and mathematical data processing was performed using the licensed office suite Microsoft Excel and the application package Statistica (version 6.1), with the serial number AGAR909E415822FA (StatSoft Inc., USA). Data were presented as  $M \pm m$ , where  $M$  was the average value of the indicator,  $m$  was the standard error. Statistically significant differences were determined at  $P < 0.05$ .

## Results

In AM ECG, the average heart rate (HR) during the day in patients before ART  $95.3 \pm 2.2$  beats/min, after ART –  $89.1 \pm 2.4$

beats/min ( $P < 0.05$ ). In the control group, this indicator was  $77.5 \pm 0.4$  beats/min. The average HR at night in patients before ART was  $61.3 \pm 1.4$  beats/min, and in patients after ART –  $61.4 \pm 1.7$  beats/min. In the control group, this indicator was  $55.2 \pm 0.2$  beats/min.

Patients before ART, a significantly higher circadian heart rate index (CI) was registered, which was  $155.4 \pm 5.1$  %, compared with patients after ART –  $148.6 \pm 5.5$  % ( $P < 0.05$ ). In the control group, CI was  $143.8 \pm 1.3$  %. So, in HIV-infected patients who did not receive ART, an increase in the sympathetic influence of the autonomic nervous system was observed, which was manifested by higher values of the average HR during day and night periods, also a higher value of CI, compared with HIV-infected patients who achieved virological and immunological goals of ART.

At the same time, the patients after ART maintained significantly higher values of daytime and nighttime average HR compared with the control group, and the CI was not significantly different.

In all patients before and after ART, SVE was registered with varying degrees of severity, whereas SVE was registered in 28 (93.3 %) of patients in the control group.

Analyzing the structure of SVE, it was found that the number of isolated SVE was the maximum before ART accounting for  $1846.3 \pm 128.6$ , which was significantly higher than in patients after ART –  $1321.4 \pm 142.1$  ( $P < 0.05$ ). The smallest number of isolated SVE ( $328.7 \pm 19.4$ ,  $P < 0.05$ ) was registered in the control group patients compared with both groups of HIV-infected patients.

SV allorhythmia (bi-, trigemina) was observed in 35 patients (81.4 %) before ART and in 32 (74.4 %) patients after ART. In the control group, SV allorhythmia was registered in 19 people (63.3 %). The total duration of SV allorhythmia in patients before ART was  $26.3 \pm 2.8$  minutes, which was not significantly different from the patients after ART –  $21.5 \pm 3.1$  minutes ( $P > 0.05$ ). In the control group patients, this indicator was  $4.2 \pm 0.4$  minutes that was significantly less compared with both groups of HIV-infected patients.

SVE couplets were registered in 25 (58.1 %) patients before ART, and in 13 (30.2 %) patients after ART. In the control group, SVE couplets were registered in 4 (13.3 %) people. SV triplets were recorded in 11 (25.6 %) patients before ART, 8 (18.6 %) patients after ART and in 2 people (6.7 %) in the control group. Herewith, the largest number of SV couplets and SV triplets were recorded in patients before ART ( $82.6 \pm 7.4$  and  $41.1 \pm 3.3$ , respectively), which was significantly different from the indicators in patients after ART ( $59.4 \pm 2.3$  and  $31.9 \pm 1.1$ ;  $P < 0.05$ , respectively) and the control group ( $14.8 \pm 0.6$  and  $9.7 \pm 0.3$ , respectively).

In 9 (20.9 %) patients before ART,  $9.7 \pm 0.6$  episodes of unstable supraventricular tachycardia (SVT) were recorded (up to 30 sec.). After ART –  $7.3 \pm 0.3$  episodes of unstable SVT were reported in 5 (11.6 %) patients.

SVT events, which are not typical for healthy people, were registered in 2 patients before ART (4.65 %), and in 2 (4.6 %) patients after ART. The total duration of SVT events was significantly longer in patients before ART and lasted for  $21.4 \pm 3.8$  minutes, compared with  $11.4 \pm 2.6$  minutes ( $P < 0.05$ ) in patients after ART. In the control group, episodes of unstable SVT and paroxysms of SVT were not recorded.

VE was detected in 31 (72.1 %) versus 27 (62.5 %) patients before and after ART, respectively, and in 6 (20 %) controls. Polymorphic VE was registered in 2 (4.65 %) patients before ART and it was not observed in other individuals.

The number of isolated VE was  $986.2 \pm 72.3$  in patients before ART, whereas a significantly smaller its number was registered in patients after ART –  $783.9 \pm 59.4$  ( $P < 0.05$ ). In the control group, the number of isolated VE was significantly lower compared with the groups before and after ART, representing  $108.4 \pm 14.1$  ( $P < 0.05$ ).

Ventricular allorhythmia was registered in 18 patients (41.9 %) before ART with a total duration of  $19.8 \pm 3.6$  minutes. After ART, ventricular allorhythmia was registered in 16 (37.2 %) patients and its total duration did not significantly differ from that in patients before ART ( $14.7 \pm 2.7$ ;  $P < 0.05$ ). In the control group, the lowest indices of allorhythmia frequency and duration were observed (6.1 % and  $2.1 \pm 0.4$  min, respectively). In both groups of HIV-infected patients, VE couplets and triplets were registered, but not being characteristics of healthy people, accordingly, these arrhythmias were not registered in the control group. Before ART, VE couplets were recorded in 13 patients (30.2 %) and their number was  $56.1 \pm 2.3$ . After ART, VE couplets were recorded in 9 patients (20.9 %) and their number was significantly lower ( $44.7 \pm 1.2$ ;  $P < 0.05$ ). A similar situation was observed when comparing the frequency of registration and number of VE triplets in HIV – infected patients: 4 (9.3 %) patients before ART versus 3 (6.9 %) patients after ART;  $20.5 \pm 1.8$  versus  $12.4 \pm 0.8$ , respectively ( $P < 0.05$ ).

Therefore, in HIV-infected patients before ART initiation, a higher frequency and severity of both SVE and VE were recorded, which were significantly decreased after virological and immunological goals of ART achieving, but not reaching the values of practically healthy individuals.

After analyzing HRV in the examined patients, it was found to be decreased in patients before ART. It was manifested by a significant decrease in SDNN and SDANN, which are integral indicators characterizing the sympathetic and parasympathetic influences of the autonomic nervous system (ANS) on HRV, compared with the control group (SDNN, ms:  $125.1 \pm 8.4$  vs.  $169.1 \pm 4.3$  ( $P < 0.05$ ); SDANN, msec:  $114.3 \pm 7.6$  vs.  $142.3 \pm 3.6$  ( $P < 0.05$ ), respectively). At the same time, the SDNN-index in these groups did not significantly differ ( $40.2 \pm 2.3$  vs.  $43.7 \pm 0.9$  ( $P > 0.05$ )). Time-domain indicators, reflecting the parasympathetic ANS influence, did not significantly differ between patients before ART and the control group (pNN50, %:  $29.2 \pm 4.3$  vs.  $34.9 \pm 0.4$  ( $P > 0.05$ ) and rMSSD, ms :  $32.6 \pm 5.6$  vs.  $38.1 \pm 0.6$ , respectively) ( $P > 0.05$ ).

Analyzing the spectral indices of HRV, we also noted the sympathetic effect predominance on HRV, which was manifested by a significant increase in the low-frequency component and the LF/HF ratio in patients before ART and the control group (LF, %:  $68.2 \pm 4.3$  vs.  $54.4 \pm 0.3$  ( $P < 0.05$ ); LF / HF, units.:  $2.31 \pm 0.07$  vs.  $1.81 \pm 0.04$  ( $P < 0.05$ ), respectively). Along with that, the high-frequency component did not significantly differ in the same groups (HF, %:  $27.7 \pm 3.1$  vs.  $28.6 \pm 1.1$  ( $P > 0.05$ )). The data above indicate an increase in the sympathetic effect of the ANS on HRV in HIV-infected patients who did not receive ART.

**Table 1.** Clinical and demographic characteristics of the examined patients

Indicators, units	Before ART (n = 43)	After ART (n = 43)	Control group (n = 30)
Average age, years	$42.3 \pm 2.8$	$43.1 \pm 2.1$	$42.6 \pm 1.9$
Men, persons (%)	24 (47.6)	19 (44.2)	16 (53.3)
Women, persons (%)	27 (52.4)	24 (55.8)	14 (46.7)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	$19.5 \pm 2.4$	$21.7 \pm 1.8$	$23.1 \pm 1.2$
SBP, mm Hg	$124.3 \pm 3.1$	$128.5 \pm 2.9$	$125.8 \pm 2.2$
DBP, mm Hg	$61.2 \pm 2.5$	$64.3 \pm 1.8$	$62.5 \pm 1.3$
CD4+ T-lymph, cells/ml	$264.2 \pm 13.4^*$	$497.3 \pm 36.7^{**}$	$692.1 \pm 74.4$
VL, copies/ml	$74264 \pm 4216^*$	$<20^{**}$	N/A
hsCRP, mg/ml	$19.1 \pm 2.2^*$	$10.7 \pm 1.3^{**}$	$4.1 \pm 0.8$

\*: the difference is significant compared with the control group ( $P < 0.05$ );

#: the difference is significant compared to before ART ( $P < 0.05$ ).

**Table 2.** Heart rate variability indicators in the examined patients

Indicators, units	Before ART (n = 43)	After ART (n = 43)	Control group (n = 30)
SDNN, ms	$125.1 \pm 8.4^*$	$148.3 \pm 11.2^{**}$	$169.1 \pm 4.3$
SDANN, ms	$114.3 \pm 7.6^*$	$133.3 \pm 8.3^{\#}$	$142.3 \pm 3.6$
pNN50, %	$29.2 \pm 4.3$	$34.1 \pm 3.3$	$34.9 \pm 0.4$
SDNN index, msec	$40.2 \pm 2.3$	$44.7 \pm 1.9$	$43.7 \pm 0.9$
rMSSD, ms	$32.6 \pm 5.6$	$36.6 \pm 4.7$	$38.1 \pm 0.6$
LF, %	$68.2 \pm 4.3^*$	$53.3 \pm 1.1^{\#}$	$54.4 \pm 0.3$
HF, %	$27.7 \pm 3.1$	$29.2 \pm 2.6$	$28.6 \pm 1.1$
LF/HF, units	$2.31 \pm 0.07^*$	$1.84 \pm 0.08^{\#}$	$1.81 \pm 0.04$

\*: the difference is significant compared with the control group ( $P < 0.05$ );

#: the difference is significant compared to before ART ( $P < 0.05$ ).

An improvement in HRV was noted in patients after achieving the virological and immunological ART goals. It was manifested by an increase in SDNN to  $148.3 \pm 11.2$  msec and SDANN to  $133.3 \pm 8.3$  msec. There were not significant changes in other time-domain HRV indicators (SDNN-index, pNN50 and rMSSD) in this group.

Improved spectral indices of HRV in patients after ART compared with those before ART were noted manifesting by a significant decrease in the LF/HF index and low-frequency component proportion, which did not differ from those in the control group (LF/HF:  $1.84 \pm 0.08$  vs.  $1.81 \pm 0.04$ ; LF:  $53.3 \pm 1.1$  % vs.  $54.4 \pm 0.3$  %, respectively). The high-frequency component percentage was not significantly different between the groups.

The identified changes indicate a decrease in sympathetic effects on the heart and an improvement in the HRV profile due to benefit of both integral time-domain parameters and spectral indices of HRV in HIV-infected patients while receiving ART.

In the course of an effective ART, HIV-infected patients showed a significant decrease in systemic inflammatory response severity, which was confirmed by a decrease in the concentration of hsCRP from  $19.1 \pm 2.2$  mg/l to  $10.7 \pm 1.3$  mg/l ( $P < 0.05$ ). However, the concentration of hsCRP in HIV-infected patients, who achieved virological and immunological ART goals, remained significantly higher compared with that in the control group.

The dynamics of heart rate variability in HIV-infected patients in the course of 1-year ART is presented in Table 2.

The dynamics of SV and VE in HIV-infected patients in the course of 1-year ART is presented in Table 3.

**Table 3.** Frequency of SV and VE in the examined patients

Indicators		Before ART (n = 43)		After ART (n = 43)		Control group (n = 30)	
		n	%	n	%	n	%
SVE (registration frequency)	Isolated	100	43	100	43	93.3	28
	Allorhythmia	81.4	35	74.4	32	63.3	19
	Couplets	58.1	25	30.2	13	13.3	4
	Triplets	25.6	11	18.6	8	6.7	2
	Unstable SVT	20.9	9	11.6	5	6.7	2
	Paroxysmal SVT	4.6	2	4.6	2	–	–
VE (registration frequency)	Isolated	72.1	31	62.5	27	20	6
	Allorhythmia	41.9	18	37.2	16	6.7	2
	Couplets	30.2	13	20.9	9	–	–
	Triplets	9.3	4	6.9	3	–	–
SVE (number/duration)	Isolated, (n)	1846.3 ± 128.6*		1321.4 ± 142.1**		328.7 ± 48.4	
	Allorhythmia, (min)	26.3 ± 2.8*		21.5 ± 3.1*		4.2 ± 0.4	
	Couplets, (n)	82.6 ± 7.4*		59.4 ± 2.3**		14.8 ± 0.6	
	Triplets, (n)	41.1 ± 3.3*		31.9 ± 1.1**		9.7 ± 0.3	
	Unstable SVT, (n)	22.8 ± 1.2*		17.7 ± 0.7**		4.4 ± 0.2	
	Paroxysmal SVT, (n)	9.7 ± 0.6*		7.3 ± 0.3**		–	
	Paroxysmal SVT, (min)	21.4 ± 3.8*		11.4 ± 2.6**		–	
VE (number/duration)	Isolated, (n)	986.2 ± 72.3*		783.9 ± 59.4**		108.4 ± 14.1	
	Allorhythmia, (min)	19.8 ± 3.6*		14.7 ± 2.7*		2.1 ± 0.4	
	Couplets, (n)	56.1 ± 2.3*		44.7 ± 1.2**		–	
	Triplets, (n)	20.5 ± 1.8*		12.4 ± 0.8**		–	
Average HR (day)	95.3 ± 2.2**		89.1 ± 2.4**		77.5 ± 0.4		
Average HR (night)	61.3 ± 1.4*		61.4 ± 1.7*		55.2 ± 0.2		
CI	155.4 ± 5.1*		148.6 ± 5.5		143.8 ± 1.3		

\*: the difference is significant compared with the control group (P < 0.05); #: the difference is significant compared to before ART (P < 0.05).

### Discussion

The life expectancy of human immunodeficiency virus-infected (HIV+) persons has increased due to an effective and available ART. As the HIV+ population age, HIV+ persons are experiencing an increasing burden of comorbidities, including cardiovascular diseases (CVDs) [13]. Myocardial infarction, arrhythmias, heart failure, and sudden cardiac death appear to occur more frequently in HIV+ versus non-infected persons [7,8,11]. Epidemiologic data suggest elevated risks for arrhythmias and sudden cardiac death among HIV+ persons, but clinical characteristics and mechanisms associated with these risks are not well understood [8,11]. A previous analysis of HIV+ persons in the Veterans Affairs (VA) HIV Clinical Case Registry used International Classification of Disease-9 (ICD-9) codes to identify likely AF/atrial flutter (AFL) diagnoses and found that a high HIV viral load and low CD4+ T cell count were associated with a significantly increased AF/AFL incidence [14]. However, none of the previous studies, as we know, has compared AF/AFL in HIV+ persons and uninfected controls. Similarly, although administrative codes may have a positive predictive value as low as 70 % for identifying AF, early studies, in our view, have not addressed AF/AFL diagnoses among HIV+ persons [15].

HIV-related immunosuppression (nadir CD4+ count <200 cells/mm<sup>3</sup>) and traditional CVD risk factors are associated with significantly elevated odds of AF/AFL among HIV+ persons. Although both AF and AFL were more common among HIV+ versus uninfected persons in this cohort, this

difference was attenuated by adjustment for demographics and CVD risk factors.

It was also found in a study of J. M. Sanders [16] that AF/AFL was somewhat more prevalent among HIV+ persons compared with frequency-matched controls, but that this difference was attenuated to statistical non-significance after adjustment for demographics and CVD risk factors. This may be due in part to a greater burden of co-morbidity among HIV+ persons compared with uninfected controls, as reflected in the generally sicker nature of the HIV+ persons in this cohort compared with uninfected controls frequency-matched on demographics and zip code. Nevertheless, the finding that greater progression of HIV was associated with a substantially greater likelihood of AF/AFL among HIV+ persons suggests that HIV disease-related factors may also play a role in AF/AFL [16].

Our study has revealed that in HIV-infected patients, prior to ART initiation, there was an increased sympathetic tone manifested by changes in the indicators of HR and CI towards increase. At the same time, changes in HRV were noted, in particular, a decrease in SDNN and an increase in SDANN in the absence of significant differences in other integral and time-domain parameters compared to the general population. In addition, an increased sympathetic nervous system activity was confirmed based on time-domain parameters of HRV analysis. An increase in the LF component and LF/HF ratio was noted compared with the general population.

Moreover, significantly more severe cardiac arrhythmias were registered among HIV-infected patients as shown by a



higher incidence and number of both SVE and VE, including forms which are not typical for healthy individuals.

It has been noted that in the course of effective ART, in HIV-infected patients, there was a relative normalization of HRV indices and a decrease in the incidence and severity of both SVE and VE. However, the changes achieved are not fully consistent with the results of the general population examination.

Identified results were accompanied by a decrease in hsCRP, which confirms the effect of systemic inflammation on both HRV and identified cardiac rhythm disorders.

Nevertheless, in HIV-infected patients reached the virological and immunological goals of ART, heart rhythm disturbances are not characteristic of the general population. This justifies the need to develop new approaches to the diagnosis and treatment of such patients, which will include the additional use of antiarrhythmic drugs.

## Conclusions

1. In HIV-infected patients, supraventricular and ventricular ectopy are more pronounced and significantly more frequently recorded, including ectopic rhythms, which are not characteristic of healthy people.

2. In HIV-infected patients on antiretroviral therapy for  $52 \pm 4$  weeks when viral load  $<20$  copies/ml and CD4+ T lymphocytes  $>400$  cells/ml are reached, the frequency of supraventricular and ventricular ectopy registration is significantly decreased but does not meet the indicators of healthy people.

3. In HIV-infected patients, a decrease in supraventricular ectopy and ventricular ectopy intensity occurs coupled with a decrease in the level of hsCRP, as well as an improvement in the integral time and spectral indices of heart rate variability. This suggests that systemic inflammatory response and hypersympathicotonia are pathogenetic links of arrhythmogenesis in HIV-infected patients.

**Prospects for further research.** More studies are needed to find out the prevalence of life-threatening arrhythmias in HIV-infected patients, their influence on the prognosis as well as to evaluate the effectiveness of antiarrhythmic drugs.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 26.06.2019  
Після доопрацювання / Revised: 15.10.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 18.10.2019

## Information about authors:

Kovalenko V. M., MD, PhD, DSc, Professor, Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Head of the Division of the Non-Coronary Heart Diseases and Rheumatology, SI "National Scientific Center "M. D. Strazhesko Institute of Cardiology" NAMS of Ukraine", Kyiv.  
Vasylenko V. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pediatrics, Family Medicine and Clinical Laboratory Diagnostics FPE, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy Ministry of Health of Ukraine", Kryvyi Rih.  
Potabashnii V. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Therapy, Cardiology and Family Medicine FPE, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy Ministry of Health of Ukraine", Kryvyi Rih.

Vasylenko A. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Therapy, Cardiology and Family Medicine FPE, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy Ministry of Health of Ukraine", Kryvyi Rih.

## Відомості про авторів:

Коваленко В. М., академік НАМН України, д-р мед. наук, професор, зав. відділення некоронарних хвороб серця та ревматології, ДУ «ННЦ «Інститут кардіології імені академіка М. Д. Стражеска» НАМН України, м. Київ.  
Василенко В. А., канд. мед. наук, доцент каф. педіатрії, сімейної медицини та клінічної лабораторної діагностики ФПО, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Кривий Ріг.  
Потабашний В. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. терапії, кардіології та сімейної медицини ФПО, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Кривий Ріг.  
Василенко А. М., д-р мед. наук, професор каф. терапії, кардіології та сімейної медицини ФПО, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Кривий Ріг.

## Сведения об авторах:

Коваленко В. Н., академик НАМН Украины, д-р мед. наук, профессор, зав. отделением некоронарных заболеваний сердца и ревматологии, ГУ «УНЦ «Институт кардиологии имени академика М. Д. Стражеско» НАМН Украины, г. Киев.  
Василенко В. А., канд. мед. наук, доцент каф. педиатрии, семейной медицины и клинической лабораторной диагностики ФПО, ГУ «Днепропетровская государственная медицинская академия МЗ Украины», г. Кривой Рог.  
Потабашный В. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. терапии, кардиологии и семейной медицины ФПО, ГУ «Днепропетровская государственная медицинская академия МЗ Украины», г. Кривой Рог.  
Василенко А. М., д-р мед. наук, профессор каф. терапии, кардиологии и семейной медицины ФПО, ГУ «Днепропетровская государственная медицинская академия МЗ Украины», г. Кривой Рог.

## References

- Coplan, P., Nikas, A., Japour, A., Cormier, K., Maradit-Kremers, H., & Lewis, R. et al. (2003). Incidence of myocardial infarction in randomized clinical trials of protease inhibitor-based antiretroviral therapy: an analysis of four different protease inhibitors. *AIDS Research And Human Retroviruses*, 19(6), 449-455. doi: 10.1089/088922203766774487
- Chinello, P., Lisena, F., Angeletti, C., Boumis, E., Papetti, F., & Petrosillo, N. (2007). Role of antiretroviral treatment in prolonging QTc interval in HIV-positive patients. *Journal Of Infection*, 54(6), 597-602. doi: 10.1016/j.jinf.2006.11.001
- Hsu, J., Li, Y., Marcus, G., Hsue, P., Scherzer, R., Grunfeld, C., & Shlipak, M. (2013). Atrial Fibrillation and Atrial Flutter in Human Immunodeficiency Virus-Infected Persons. *Journal Of The American College Of Cardiology*, 61(22), 2288-2295. doi: 10.1016/j.jacc.2013.03.022
- Lang, S., Mary-Krause, M., Cotte, L., Gilquin, J., Partisani, M., & Simon, A. et al. (2010). Increased risk of myocardial infarction in HIV-infected patients in France, relative to the general population. *AIDS*, 24(8), 1228-1230. doi: 10.1097/qad.0b013e328339192f
- Singh, M., Arora, R., & Jawad, E. (2010). HIV Protease Inhibitors Induced Prolongation of the QT Interval: Electrophysiology and Clinical Implications. *American Journal Of Therapeutics*, 17(6), e193-201. doi: 10.1097/mjt.0b013e328181ad3437
- Soliman, E., Prineas, R., Roediger, M., Duprez, D., Boccara, F., & Boesecke, C. et al. (2011). Prevalence and prognostic significance of ECG abnormalities in HIV-infected patients: results from the Strategies for Management of Antiretroviral Therapy study. *Journal Of Electrocardiology*, 44(6), 779-785. doi: 10.1016/j.jelectrocard.2010.10.027
- Triant, V., Lee, H., Hadigan, C., & Grinspoon, S. (2007). Increased Acute Myocardial Infarction Rates and Cardiovascular Risk Factors among Patients with Human Immunodeficiency Virus Disease. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(7), 2506-2512. doi: 10.1210/jc.2006-2190
- Tseng, Z., Secemsky, E., Dowdy, D., Vittinghoff, E., Moyers, B., & Wong, J. et al. (2012). Sudden Cardiac Death in Patients With Human Immunodeficiency Virus Infection. *Journal Of The American College Of Cardiology*, 59(21), 1891-1896. doi: 10.1016/j.jacc.2012.02.024
- Dubé, M., Lipshultz, S., Fichtenbaum, C., Greenberg, R., Schecter, A., & Fisher, S. (2008). Effects of HIV Infection and Antiretroviral Therapy on the Heart and Vasculature. *Circulation*, 118(2), e36-40. doi: 10.1161/circulationaha.107.189625

- [10] Kent, S., Bromfield, S., Burkholder, G., Falzon, L., Oparil, S., & Overton, E. et al. (2016). Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Individuals with HIV: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*, 11(2), e0148920. doi: 10.1371/journal.pone.0148920
- [11] Brouillette, J., Cyr, S., & Fiset, C. (2019). Mechanisms of Arrhythmia and Sudden Cardiac Death in Patients With HIV Infection. *Canadian Journal Of Cardiology*, 35(3), 310-319. doi: 10.1016/j.cjca.2018.12.015
- [12] Nauffal, V., C Wu, K., Ashikaga, H., Kirk, G., & Post, W. (2017). HIV and Ventricular Arrhythmia Susceptibility: Insights from Cardiac Patch Monitoring. *Journal Of Clinical Case Reports*, 7(11). doi: 10.4172/2165-7920.10001045
- [13] Trickey, A., May, M., Vehreschild, J., Obel, N., Gill, M., & Crane, H. et al. (2016). Cause-Specific Mortality in HIV-Positive Patients Who Survived Ten Years after Starting Antiretroviral Therapy. *PLoS One*, 11(8), e0160460. doi: 10.1371/journal.pone.0160460
- [14] Hsu, J., Li, Y., Marcus, G., Hsue, P., Scherzer, R., Grunfeld, C., & Shlipak, M. (2013). Atrial Fibrillation and Atrial Flutter in Human Immunodeficiency Virus-Infected Persons. *Journal Of The American College Of Cardiology*, 61(22), 2288-2295. doi: 10.1016/j.jacc.2013.03.022
- [15] Jensen, P., Johnson, K., Floyd, J., Heckbert, S., Carnahan, R., & Dublin, S. (2012). A systematic review of validated methods for identifying atrial fibrillation using administrative data. *Pharmacoepidemiology And Drug Safety*, 21, 141-147. doi: 10.1002/pds.2317
- [16] Sanders, J., Steverson, A., Pawlowski, A., Schneider, D., Achenbach, C., Lloyd-Jones, D., & Feinstein, M. (2018). Atrial arrhythmia prevalence and characteristics for human immunodeficiency virus-infected persons and matched uninfected controls. *PLoS One*, 13(3), e0194754. doi: 10.1371/journal.pone.0194754

## Treatment of sleep disorders in patients with hypertension and obesity

O. M. Bilovol<sup>\*I,A,F</sup>, I. I. Kniazkova<sup>1,B,C,D</sup>, M. V. Bohun<sup>1,C</sup>, V. M. Mishchenko<sup>2,C</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv National Medical University, Ukraine, <sup>2</sup>State Institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

**The aim of the study** is to improve the efficacy of the treatment of sleep disorders in patients with arterial hypertension (AH) and obesity.

**Materials and methods.** In total, 62 patients were examined (mean age  $58.3 \pm 2.3$  years) with AH and obesity. All of the surveyed persons underwent general clinical examination, daily BP monitoring, life quality assessment (General Well-Being Questionnaire). The ICSD-2 (2005) criteria were used to identify sleep disorders (dyssomnia) and subjective sleep characteristics questionnaires – for circadian "sleep –wake" rhythm disturbances assessment. Sleep disorders were found in all the examined patients at baseline. After the baseline data registration, the patients were prescribed basic therapy, 32 (group 1) of whom additionally received melatonin at a dose of 3 mg for 4 weeks; 30 patients were included in group 2.

**Results.** After treatment, in group 1, the levels of office SBP and DBP were 6.9 % and 6.7 % ( $P < 0.05$ ), and the average daily SBP and DBP (according to DMBP data) were 7.9 % and 6.7 % ( $P < 0.05$ ) lower, respectively, than in group 2. In patients of group 1, positive changes in lipid and carbohydrate metabolism, a significant improvement in subjective sleep characteristics and circadian "sleep – wake" rhythm were registered along with an improvement in the quality of life.

**Conclusions.** Thus, melatonin add-on treatment in patients with AH and obesity with sleep disorders increases the efficacy of antihypertensive therapy, has a beneficial effect on glucometabolic parameters, subjective assessment of sleep quality and the quality of life.

### Key words:

sleep disorders, hypertension, obesity, daily monitoring of blood pressure, therapy.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 717–722

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186481

\*E-mail:  
sskripka72@gmail.com

### Лікування порушень сну в пацієнтів з артеріальною гіпертензією та ожирінням

О. М. Біловол, І. І. Князькова, М. В. Богун, В. М. Міщенко

**Мета роботи** – підвищення ефективності лікування порушень сну в пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ) та ожирінням.

**Матеріали та методи.** Обстежили 62 особи (середній вік –  $58,3 \pm 2,3$  року) з АГ та ожирінням. Усім провели загальноклінічне обстеження, добовий моніторинг АТ, оцінювання якості життя (опитувальник «General Well – Being Questionnaire»). Для виявлення порушень сну (дисомнія) використовували критерії МКПС-2 (2005), а оцінювання порушень циркадного ритму «сон – неспання» – анкети бального оцінювання суб'єктивних характеристик сну. В пацієнтів обох груп у вихідних умовах відзначені порушення сну. Після реєстрації вихідних даних пацієнтам призначали базисну терапію, з них 32 (1 група) отримували додатково препарат мелатонін у дозі по 3 мг протягом 4 тижнів; 2 групу становили 30 пацієнтів.

**Результати.** Після лікування в 1 групі рівні офісного САТ і ДАТ були на 6,9 % і на 6,7 % ( $p < 0,05$ ), а середньодобові САТ і ДАТ (за даними ДМАТ) – на 7,9 % і 6,7 % ( $p < 0,05$ ) нижчі, ніж у 2 групі. У пацієнтів 1 групи відзначили позитивні зміни показників ліпідного та вуглеводного обміну, вірогідне покращення суб'єктивних характеристик сну та циркадного ритму «сон – неспання» поряд з поліпшенням показників якості життя.

**Висновок.** Додавання мелатоніну пацієнтам з АГ та ожирінням із порушеннями сну підвищує ефективність гіпотензивної терапії, позитивно впливає на глюкометаболічні параметри, суб'єктивне оцінювання якості сну та якість життя.

### Ключові слова:

порушення сну, артеріальна гіпертензія, ожиріння, добовий моніторинг артеріального тиску, лікування.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 717–722

### Лечение нарушений сна у пациентов с артериальной гипертензией и ожирением

А. Н. Беловол, И. И. Князькова, М. В. Богун, В. Н. Мищенко

**Цель работы** – повышение эффективности лечения нарушений сна у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) и ожирением.

**Материалы и методы.** Обследовано 62 больных (средний возраст –  $58,3 \pm 2,3$  лет) с АГ и ожирением. Всем обследованным лицам проведено общеклиническое обследование, суточный мониторинг АД, оценка качества жизни (опросник «General Well – Being Questionnaire»). Для выявления нарушений сна (диссомния) использовали критерии МКПС-2 (2005), а оценки нарушений циркадного ритма «сон – бодрствование» – анкеты бальной оценки субъективных характеристик сна. У пациентов обеих групп в исходных условиях отмечены нарушения сна. После регистрации исходных данных пациентам назначали базисную терапию, из них 32 (1 группа) дополнительно получала препарат мелатонин в дозе 3 мг в течение 4 недель; 30 пациентов составили 2 группу.

**Результаты.** После лечения в 1 группе уровни офисного САД и ДАД были на 6,9 % и на 6,7 % ( $p < 0,05$ ), а среднесуточные САД и ДАД (по данным СМАД) – на 7,9 % и 6,7 % ( $p < 0,05$ ) ниже, чем во 2 группе. У пациентов 1 группы отмечены позитивные изменения показателей липидного, углеводного обмена и достоверное улучшение субъективных характеристик сна и циркадного ритма «сон – бодрствование» наряду с улучшением показателей качества жизни.

### Ключевые слова:

нарушение сна, артериальная гипертензия, ожирение, суточный мониторинг артериального давления, лечение.

Запорозький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 717–722

**Вывод.** Таким образом, назначение мелатонина пациентам с АГ и ожирением с нарушениями сна повышает эффективность гипотензивной терапии, положительно влияет на глюкометаболические параметры, субъективную оценку качества сна и качество жизни.

It has been found that arterial hypertension (AH) and metabolic disorders are associated with high cardiovascular morbidity and mortality [1]. On the other hand, an extremely pressing issue today is an increase in prevalence of obesity and associated metabolic disorders, that is the basis for the development of many chronic non-communicable diseases [2]. The association between AH and obesity significantly increases the risk of cardiovascular complications development. Thus, weight gain of 1 kg increases the risk of developing cardiovascular complications by 3.1 % and diabetes by 4.5–9.0 % [3].

Many studies have demonstrated the relationship between sleep disorders, sleep duration and obesity [4]. Thus, the results of meta-analysis [5] confirmed that in individuals with short sleep duration, the risk of obesity development was 1.55 times increased. The influence of sleep duration, insomnia and obstructive sleep apnea syndrome on the increased risk of metabolic syndrome, cardiovascular morbidity and mortality, determining the clinical and social significance of sleep disorders, has been established [6].

Disturbances in the system of circadian biorhythms associated with sleep disorders, in particular, changes in the melatonin secretion – a hormonal mediator between the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus and peripheral tissues, contribute to the development of a number of diseases, including obesity, hypertension, type 2 diabetes [7]. However, an important and protective role of melatonin in case of obesity are regulation of body mass due to the stimulation of lipolysis and thermogenesis, normalization of lipid and carbohydrate metabolism, slowing the development of atherosclerotic processes [8]. Changes in melatonin secretion, circadian disorders, desynchronization can play a significant role in the pathogenesis and progression of metabolic syndrome in patients with sleep disorders, so their detection and evaluation from the diagnostic standpoint, as well as the correction of melatonin deficiency is important in optimizing therapy for this pathological condition. In that regard, the aim of our study was to improve the treatment efficacy of sleep disorders in patients with AH and obesity.

## Materials and methods

In total, 62 patients (12 females and 40 males, mean age  $58.3 \pm 2.3$  years) with stage 2 AH and obesity were examined. Based on body mass index (BMI), 46 and 16 patients were diagnosed with obesity class I and II, respectively. AH was diagnosed in accordance with the recommendations of the European Society of Hypertension and the European Society of Cardiology (ESH/ESC, 2013) as well as the Ukrainian Association of Cardiology for the Prevention and Treatment of AH (2013).

Sleep disorders were diagnosed in accordance with the International Classification of Sleep Disorders ICSD-2 criteria [9], which were manifested by difficulties with falling asleep or staying asleep, daytime functioning associated with poor sleep quality, or the above listed complaints in any combination.

All patients underwent general clinical and physical examination, office blood pressure (BP) and heart rate (HR) were measured, clinical blood test, urinalysis, biochemical blood test to determine fasting serum glucose (FSG), levels of glycosylated hemoglobin (HbA1c) in whole blood, insulin, fasting blood levels of lipids (total cholesterol – TC, low density lipoprotein cholesterol – LDL-C, high density lipoprotein cholesterol – HDL-C, triglycerides – TGs) were performed; insulin resistance was assessed by HOMA-IR index.

BMI was calculated according to the formula:

$$\text{BMI} = \text{body weight (kg)} / \text{height (m)}^2$$

According to the 1997 WHO classification [10], the following was considered: normal body weight if BMI – 18–24.9; overweight if BMI – 25–29.9 and obesity class I, II if BMI – 30–34.9 and 35–39.9 kg/m<sup>2</sup>, respectively. According to the same guideline, abdominal obesity was defined as waist circumference (WC) of 102 cm or more for men and 88 cm or more for women.

Daily blood pressure monitoring (DBPM) was performed using an “ABPM-02” equipment (Meditech, Hungary). The following parameters were assessed: average values of SBP, DBP, pulse pressure (PP), BP<sub>aver</sub> per day (24 hours), day and night, BP rate variability during day and night, time index (TI) of hypertension – percentage of daytime SBP  $\geq 140$  and DBP  $\geq 90$  mm Hg and nighttime  $\geq 120$  and  $\geq 70$  mm Hg, respectively [11]. We evaluated the severity of BP two-phase pattern by daily index (DI) – day – night difference in BP defined as a percentage decline using the formula:

$$\text{DI} = 100 \% \times (\text{BPd} - \text{BPn}) / \text{BPd}$$

where BPd – mean BP during daytime; BPn – mean BP during nighttime.

The patients were divided into four groups by the value of DI:

- “dipper” (DI – 10–20 %) – optimal nocturnal BP drop;
- “non-dipper” (DI – 0–10 %) – insufficient nocturnal BP drop;
- “night-peaker” (DI < 0) – nocturnal increase in BP;
- “over-dipper” (DI > 20) – extreme nocturnal BP drop.

The ICSD-2 (2005) criteria were used to identify sleep disorders (dyssomnia):

- 1) complaints of sleep disorders  $\geq 3$  nights per week;
- 2) sleep disorders despite the presence / availability of adequate opportunity and circumstances for sleep;
- 3) symptoms associated with daytime impairment are due to the sleep difficulty.

In addition, at the screening stage, the patients completed the Berlin questionnaire and the Epworth Sleepiness Scale and were excluded from the study in case of obstructive sleep apnea syndrome signs presence.

In order to assess circadian “sleep – wake” rhythm in addition to anamnesis data, point assessment questionnaires were used to evaluate subjective characteristics of sleep [12]. Patients were asked to complete the questionnaires and to evaluate the following sleep parameters on a five-point scale: time of sleep onset and sleep duration, number of night awakenings and dreams, quality of sleep and morning awakening. The interpretation of the test results was performed according to the total number of points:

22 and above – sleep was rated as normal, 18 points and less – disturbed sleep, 19–21 points – boundary values. The study included the patients who scored 19 points or less according to the results of the questionnaire.

To assess the patients' life of quality, the "General Well – Being Questionnaire" of Marburg University (GWBQ, J. Siegrist et al., 1989) was used. The questionnaire includes 7 clinical scales: patients' assessment of their physical well-being (I), ability to work (II), positive (III) or negative (IV) psychological health, psychological abilities (V), interpersonal relationships (VI) and social abilities (VII). During assessment the dynamics of the GWBQ questionnaire scales, it was considered that a decrease in scales I and IV and an increase in other scales indicated an improvement in the quality of life.

After registration of baseline data, basic therapy for AH was administered to 32 patients of the main group (group 1) (Lisinopril, Amlodipine) and melatonin medication ("Vita-Melatonin", Kyiv Vitamin Plant, Ukraine) at a dose of 3 mg, 30 minutes before bedtime for 4 weeks. Group 2 included 30 patients who received basic therapy for AH. Patients in both groups also received Metformin, statins, antiplatelet therapy. These patient groups were age- and gender-matched. The control group consisted of 20 healthy individuals (4 females and 16 males, mean age  $58.1 \pm 2.9$  years).

All patients successfully completed the study according to the protocol. The second examination (assessment) was performed after 4 weeks of treatment. There were no side and adverse effects reported in that period.

The computer processing of the study results was carried out using the software package Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA).

A Lilliefors-corrected Kolmogorov-Smirnov test was used to determine the distribution normality. Differences between groups were tested for statistical significance using Student's t test for unpaired data when the data passed the normality test and a Mann-Whitney U test when it did not. Continuous quantitative variables were expressed as  $M \pm SD$ , where M was the arithmetic mean and SD was the standard deviation. Dichotomous and ordinal qualitative data were expressed as frequencies (n) – the number of objects with the same attribute value and fraction (%). To determine the differences in qualitative variables, contingency tables were analyzed using the exact Fisher criterion. The differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

## Results

In our study, after the treatment course in patients with AH and obesity, a significant decrease in BP was observed according to the office BP measurement and DMBP (Table 1).

It was found that after the course conducted in the group of patients who received melatonin as add-on to basic therapy, the levels of office SBP and DBP were 6.9 % and 6.7 % ( $P < 0.05$ ) lower, respectively, than in group 2.

Analysis of DMBP after 4 weeks revealed high antihypertensive efficacy of both treatment regimens (Table 2), but more pronounced in case of melatonin add-on therapy. Thus, average daily SBP and DBP were 7.9 % and 6.7 % ( $P < 0.05$ ) lower, respectively, in patients of group 1 in comparison to group 2.

Indicators of pressure load, SBP and DBP TI of hypertension, were significantly decreased in all the patients on the combined treatment with melatonin add-on at all time intervals and did not exceed the norm, indicating a stable 24-hour antihypertensive effect.

Analysis of the BP daily profile showed that in group 1, there was a significant increase in the number of "dippers" from 5 (15.6 %) to 22 (68.8 %) ( $P < 0.05$ ), and the number of "non-dippers" decreased from 19 (59.3 %) to 10 (31.2 %) ( $P < 0.05$ ). 8 patients "night-peakers" moved to the "dipper" group. Less pronounced changes were found in group 2: the number of "dippers" increased from 4 (13.3 %) to 15 (50 %) ( $P < 0.05$ ), the number of "non-dippers" decreased from 20 (66.6 %) to 12 (40 %) ( $P < 0.05$ ). 3 patients moved to the "dippers" group from 6 "night-peakers" patients.

After the treatment, an improvement of metabolic profile indicators (Table 2) was found.

After treatment, it was found that there were positive changes in the lipid metabolism indicators in both groups of patients with AH and obesity, but more pronounced decrease in TC, triglycerides and LDL cholesterol levels along with a statistically significant increase in HDL cholesterol ( $P < 0.05$ ) level demonstrated the group received melatonin add-on to basic therapy (Table 2).

Changes in the carbohydrate profile after the treatment confirmed a significant decrease in FBS levels in patients received melatonin add-on to basic therapy (Table 2). The levels of HbA1c, insulin and HOMA-IR were decreased in group 1 patients, indicating that fasting serum glucose was under control and manifestations of insulin resistance were reduced. No significant changes in carbohydrate metabolism were observed in group 2.

**Table 1.** Indicators of blood pressure according to the office measurement and DMBP in patients with AH and obesity before and after treatment ( $M \pm m$ )

Indicators, units	Group 1 (n = 32)		Group 2 (n = 30)	
	before treatment	after treatment	before treatment	after treatment
Sphygmomanometry:				
SBP, mm Hg	164.3 ± 2.3	130.5 ± 1.8***	165.1 ± 2.4	139.5 ± 1.8***
DBP, mm Hg	93.8 ± 2.5	80.3 ± 1.8***	94.1 ± 2.6	85.7 ± 1.8**
DMBP				
SBP24, mm Hg	151.6 ± 2.6	120.3 ± 1.6***	151.9 ± 2.5	129.8 ± 1.8***
DBP24, mm Hg	91.7 ± 2.2	75.1 ± 1.7***	91.6 ± 2.3	80.1 ± 1.8***
TI SBP day, %	61.5 ± 2.3	35.1 ± 1.1***	62.1 ± 2.4	36.3 ± 1.1***
TI DBP day, %	50.3 ± 2.1	15.9 ± 1.4***	51.1 ± 2.3	26.7 ± 1.3***
TI SBP night, %	65.5 ± 2.3	48.1 ± 2.1*	65.3 ± 2.1	49.5 ± 2.3*
TI DBP night, %	43.3 ± 2.3	20.9 ± 2.1***	43.2 ± 2.4	21.9 ± 2.3***

Significance of differences compared to the baseline data; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ .

**Table 2.** Dynamics of glucose metabolism parameters in patients with arterial hypertension and obesity before and after treatment (M ± m)

Indicators, units	Group 1 (n = 32)		Group 2 (n = 30)	
	before treatment	after treatment	before treatment	after treatment
TC, mmol/l	5.4 ± 0.11	5.0 ± 0.08*	5.5 ± 0.11	5.2 ± 0.05*
LDL-C, mmol/l	3.4 ± 0.12	2.5 ± 0.10**	3.5 ± 0.13	2.8 ± 0.10**
HDL-C, mmol/l	0.98 ± 0.06	1.23 ± 0.02**	0.95 ± 0.05	1.05 ± 0.03*
TGs, mmol/l	2.28 ± 0.07	1.79 ± 0.06**	2.35 ± 0.07	1.98 ± 0.05**
FSG, mmol/l	5.6 ± 0.15	5.2 ± 0.10*	5.5 ± 0.16	5.4 ± 0.11
HbA1c, %	5.5 ± 0.12	5.1 ± 0.10*	5.4 ± 0.14	5.4 ± 0.11
Insulin, mcU/ml	19.1 ± 0.49	15.3 ± 0.45**	18.2 ± 0.49	18.1 ± 0.47
HOMA-IR, mcU/ml	4.9 ± 0.46	3.4 ± 0.42*	3.9 ± 0.459	3.5 ± 0.47

Significance of differences compared to the baseline data: \*; P < 0.05; \*\*; P < 0.01; \*\*\*; P < 0.001.

**Table 3.** Subjective sleep characteristics in the control group and in patients with AH and obesity before and after treatment

Indicators	Period of study	Group 1 (n = 32)	Group 2 (n = 30)	Control (n = 20)
Time of falling asleep	Before treatment	2.8 ± 0.3	2.7 ± 0.4	4.0 ± 0.2
	After treatment	3.8 ± 0.2**	2.7 ± 0.2	
Duration of sleep	Before treatment	2.4 ± 0.5	2.5 ± 0.5	4.3 ± 0.3
	After treatment	3.7 ± 0.2*	2.6 ± 0.3	
Number of nighttime awakenings	Before treatment	2.25 ± 0.3	2.25 ± 0.3	3.8 ± 0.2
	After treatment	3.2 ± 0.2**	2.25 ± 0.1	
Number of dreams	Before treatment	2.4 ± 0.5	2.5 ± 0.3	4.0 ± 0.2
	After treatment	3.8 ± 0.4*	2.5 ± 0.2	
Sleep quality	Before treatment	2.6 ± 0.3	2.7 ± 0.4	4.5 ± 0.4
	After treatment	3.7 ± 0.4*	2.8 ± 0.3	
Quality of morning awakening	Before treatment	2.8 ± 0.3	2.9 ± 0.4	4.3 ± 0.3
	After treatment	3.8 ± 0.2**	2.9 ± 0.3	

Significance of differences compared to the baseline data; \*; P < 0.05; \*\*; P < 0.01.

**Table 4.** Changes in the quality of life indicators (M ± m, in points) in the dynamics of treatment in patients with AH and obesity

GWBQ scales	Period of study	Group 1 (n = 32)	Group 2 (n = 30)
I	Before treatment	7.61 ± 0.43	7.63 ± 0.43
	After treatment	6.05 ± 0.41*	6.07 ± 0.41*
II	Before treatment	13.51 ± 0.41	13.52 ± 0.40
	After treatment	15.09 ± 0.36**	14.73 ± 0.35**
III	Before treatment	8.26 ± 0.41	8.29 ± 0.40
	After treatment	8.87 ± 0.36	8.86 ± 0.37
IV	Before treatment	11.08 ± 0.39	11.0 ± 0.37
	After treatment	8.50 ± 0.34**	9.83 ± 0.35*
V	Before treatment	14.43 ± 0.35	14.40 ± 0.35
	After treatment	16.48 ± 0.30**	15.37 ± 0.32*
VI	Before treatment	7.53 ± 0.45	7.52 ± 0.43
	After treatment	7.39 ± 0.41	7.40 ± 0.41
VII	Before treatment	12.72 ± 0.55	12.70 ± 0.54
	After treatment	13.98 ± 0.43*	13.35 ± 0.45*
C	Before treatment	3.76 ± 0.11	3.78 ± 0.12
	After treatment	3.99 ± 0.16	3.95 ± 0.15
H	Before treatment	4.17 ± 0.18	4.15 ± 0.21
	After treatment	4.43 ± 0.19	4.40 ± 0.23

C: general condition a week before the survey; H: mood the week before the survey. Significance of differences compared to the baseline data; \*; P < 0.05; \*\*; P < 0.001.

Patients of both groups reported sleep disorders at baseline, according to the anamnesis data and the results of subjective sleep characteristics assessment. The questionnaire survey data of the examined patients and the control group are presented in *Table 3*. It was found that the examined patients had pronounced sleep disorders according to the questionnaire results of subjective sleep characteristics evaluation. Thus, the mean score in patients with AH and

obesity was significantly lower compared to healthy persons (15.4 ± 0.4 vs 24.9 ± 0.3; P < 0.001).

After 4 weeks of therapy, group 1 patients showed significantly improved subjective sleep characteristics: decreased duration of falling asleep and number of nighttime awakenings, improved quality of sleep and quality of morning awakening that reasonably resulted in a significant increase in the total point score from 15.25 ± 0.5 up to 22.0 ± 0.6 (P < 0.001) points. Moreover, the total score reached the normal values in 24 patients (75 %) (P < 0.05).

Analysis of the therapeutic effect on the subjective assessment of sleep quality in the patients of group 2 showed no significant changes in any evaluated indicators of the somnological status (the total score was slightly increased from 15.5 ± 0.5 to 15.7 ± 0.4).

Prescription of combined treatment with melatonin resulted in an improvement of the indicators characterizing the quality of life in patients with AH and obesity (*Table 4*).

Significant improvement in the indicators I, II, IV, V and VII of the questionnaire scales was revealed, covering nearly all components of the quality of life in both groups of patients. However, group 1 demonstrated a more significant (P < 0.05) improvement in the psychological component of the quality of life: psychological abilities (scale V) and degree of negative psychological condition severity in the examined patients (scale IV). The improvement of physical health (scale I) in patients of both groups was estimated (apparently due to BP correction). In addition, the tendency to more positive effect of combined therapy with melatonin add-on on the ability for work (scale II) and ability for social contacts (scale VII) was found in patients with AH and obesity.

## Discussion

The theoretical basis of the developed treatment complex is the concept that changes in the production of melatonin, which go beyond physiological fluctuations, lead to a discrepancy of the body's own biological rhythms between themselves (internal desynchronization) and the rhythms of the organism with the environmental rhythms (external desynchronization) [13]. Chronobiological disorders have been shown to occur in case of hypertension, diabetes mellitus, and other pathological conditions [14]. It is important to study the chronotropic activity of melatonin, as a potent biochemical marker of circadian rhythm and a regulator of the most important metabolic processes in the body. It has been experimentally established that melatonin exhibits endothelioprotective properties, in particular, increases the bioavailability of nitric oxide, increases activity of antioxidant enzymes and reduces oxidative damage, has a positive effect on carbohydrate and lipid metabolism, as well as the profile of BP, decreases insulin resistance, accelerates weight loss [15]. Melatonin has been shown to be effective in reducing BP in patients with metabolic syndrome and chronic non-communicable inflammation [16], but such studies are insufficient and controversial regarding efficacy and safety of such therapy. In our study, melatonin add-on to the traditional antihypertensive therapy resulted in a significantly greater decrease in the levels of office BP and average daily data, pressure load time and normalization of the daily BP profile.

It is also worth mentioning that antihypertensive therapy choice is difficult in patients with obesity, since drugs for such patients treatment should have a prolonged effect during the day, contribute to the regression of target organs damage, be easy-to-use and provide an opportunity for a rational drug combinations as well as should not have a negative effect on carbohydrate and lipid metabolism. The research based on the systematic approach methodology will allow developing a strategy for treatment optimization taking into account individual characteristics of patients with sleep disorders combined both with AH and obesity, and it seems promising and justified.

We have found a more pronounced significant decrease in the HOMA index and basal insulinemia, FBS and HbA1 levels in subjects taking melatonin appeared to indicate the pathogenetic evidence of such therapy. The data obtained meet the results of the previous studies [17,18]. Possible mechanisms of these effects can be an activation of peripheral receptors to insulin by means of phosphorylation of tyrosine kinase, as well as the normalization of the circadian rhythm of the adipose tissue secretory activity [19]. Combined therapy with melatonin add-on resulted in a slight but significant decrease in the blood levels of TC, LDL and TG and a significant increase in HDL ( $P < 0.05$ ), that was apparently linked the antiatherogenic pleiotropic effect of melatonin. Moreover, melatonin add-on to the basic therapy in AH patients with obesity and insomnia showed an improvement in sleep quality and normalization of the sleep-wake rhythm giving advantages in the treatment for this category of patients. Both groups demonstrated improved physical and mental characteristics of the quality of life at the end of the study.

## Conclusions

1. Melatonin add-on to the therapeutic complex in case of sleep disorders in patients with AH and obesity improves subjective assessment of sleep quality and is manifested in the improvement of the circadian rhythm sleep-wake.

2. Melatonin add-on to the treatment regimen for patients with AH, obesity and sleep disorders increases the effectiveness of antihypertensive therapy, improves BP daily profiles, positively influences glucometabolic parameters and the quality of life in this category of patients.

3. Complex therapy with melatonin add-on has a positive impact on the quality of life in AH patients with obesity and sleep disorders. This is evident in improvements in the indicators of scales reflecting physical well-being, performance efficiency, psychological skills, the degree of intensity of psychological well-being and social skills.

Currently, one of the most promising strategies is the influence on chronobiological mechanisms triggering cascade of metabolic disorders with an outcome of insulin resistance. Our research showed that melatonin enhances the hypotensive effect of basic therapy, especially in case of inability to adequately reduce BP at night. It seems to us that melatonin is still underestimated by doctors and should be wider used for the therapy of internal diseases in the future.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 20.09.2019  
Після доопрацювання / Revised: 30.09.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 03.10.2019

### Information about authors:

Bilovol O. M., MD, PhD, DSc, Professor of Clinical Pharmacology and Internal Medicine Department, Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv National Medical University.

Kniaztkova I. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Pharmacology and Internal Medicine Department, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Bohun M. V., PhD, Associate Professor, Foreign Languages Department, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Mishchenko V. M., MD, PhD, DSc, Professor, State Institution "Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

### Відомості про авторів:

Біловол О. М., академік НАМН України, д-р мед. наук, професор каф. клінічної фармакології та внутрішньої медицини, Харківський національний медичний університет.

Князькова І. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. клінічної фармакології та внутрішньої медицини, Харківський національний медичний університет, Україна.

Богун М. В., канд. філол. наук, доцент каф. іноземних мов, Харківський національний медичний університет, Україна.

Мищенко В. М., д-р мед. наук, професор, ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України», м. Харків.

### Сведения об авторах:

Беловол А. Н., академик НАМН Украины, д-р мед. наук, профессор каф. клинической фармакологии и внутренней медицины, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Князькова И. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. клинической фармакологии и внутренней медицины, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.  
 Богун М. В., канд. филол. наук, доцент каф. иностранных языков, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.  
 Мищенко В. Н., д-р мед. наук, профессор, ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины», г. Харьков.

- [17] Robeva, R., Kirilov, G., Tomova, A., & Kumanov, P. (2008). Melatonin-insulin interactions in patients with metabolic syndrome. *Journal Of Pineal Research*, 44(1), 52-56. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00527
- [18] Cagnacci, A., Arangino, S., Renzi, A., Paoletti, A., Melis, G., Cagnacci, P., & Volpe, A. (2001). Influence of melatonin administration on glucose tolerance and insulin sensitivity of postmenopausal women. *Clinical Endocrinology*, 54(3), 339-346. doi: 10.1046/j.1365-2265.2001.01232.x
- [19] Mühlbauer, E., Gross, E., Labucay, K., Wolgast, S., & Peschke, E. (2009). Loss of melatonin signalling and its impact on circadian rhythms in mouse organs regulating blood glucose. *European Journal Of Pharmacology*, 606(1-3), 61-71. doi: 10.1016/j.ejphar.2009.01.029

## References

- [1] Kovalenko, V. M. (2013). *Rehionalni medyko-sotsialni problemy khvorob systemy krovoobihu [Regional medico-social problems of circulatory system diseases]*. Kyiv. [in Ukrainian].
- [2] Netiazhenko, V. Z., & Puzanova, O. H. (2009). Arterialna hipertenzia yak faktor kardiovaskularnoho ryzyku [Hypertension as a cardiovascular risk factor]. *Internal medicine*, 1-2(13-14), 9-26. [in Ukrainian].
- [3] Nedogoda, S. V., Barykina, I. N., Salasjuk, A. S., Hripaeva, V. Yu., & Smirnova, V. O. (2015). Ispolzovanie kompleksnoy terapii v vedenii metabolicheskogo sindroma [The use of multi-component therapy in the management of metabolic syndrome]. *Almanac of Clinical Medicine*, 1, 51-59. [in Russian].
- [4] Pinhasov, B. B., Seljatickaja, V. G., Karapetjan, A. R., Galanova, Zh. M., & Dobrovolskaja, N. P. (2012). Vozrastnaja zavisimost asociacii metabolicheskogo sindroma s tipami ozhireniya u zhenshin [Age dependence of metabolic syndrome association with obesity species among women]. *Advances in Gerontology*, 25(4), 617-622. [in Russian].
- [5] Cappuccio, F., Taggart, F., Kandala, N., Currie, A., Peile, E., Stranges, S., & Miller, M. (2008). Meta-analysis of short sleep duration and obesity in children and adults. *Sleep*, 31(5), 619-626. doi: 10.1093/sleep/31.5.619
- [6] Olejnikov, V. Je., Sergackaja, N. V., & Tomashevskaja, Ju. A. (2012). Vzaimosvjaz ozhireniya i narushenij uglevodnogo obmena s sindromom obstruktivnogo apnoje vo sne [Association of obesity and carbohydrate metabolism disorders and sleep apnea syndrome]. *International medical journal*, 18(3), 31-39. [in Russian].
- [7] Faraut, B., Touchette, É., Gamble, H., Royant-Parola, S., Safar, M., Varsat, B., & Léger, D. (2012). Short sleep duration and increased risk of hypertension: a primary care medicine investigation. *Journal Of Hypertension*, 30(7), 1354-1363. doi: 10.1097/HJH.0b013e32835465e5
- [8] Mesri Alamdari, N., Mahdavi, R., Roshanravan, N., Lotfi Yaghin, N., Ostadrahimi, A., & Faramarzi, E. (2015). A double-blind, placebo-controlled trial related to the effects of melatonin on oxidative stress and inflammatory parameters of obese women. *Hormone And Metabolic Research*, 47(7), 504-508. doi: 10.1055/s-0034-1384587
- [9] AASM. (2005). *International classification of sleep disorders: Diagnostic and coding manual*. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine.
- [10] World Health Organization (WHO) (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation. Retrieved from [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO\\_TRS\\_916.pdf;jsessionid=ACF94113894A623DEAC113A146C394D0?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO_TRS_916.pdf;jsessionid=ACF94113894A623DEAC113A146C394D0?sequence=1)
- [11] Rogoza, A. N., Agalcov, M. V., & Sergeeva, M. V. (2005). *Sutochnoe monitorirovanie arterialnogo davlenija: varianty vrachebnyh zaključenij i kommentarii [24-hour ambulatory blood pressure monitoring: medical opinions and comments]*. Nizhny Novgorod. [in Russian].
- [12] Levin, Ja. I. (1995). Farmakoterapija insomnij: rol imovana [Pharmacotherapy for insomnia: the role of imovan]. Levin, Ja. I., Eligulashvili, T. S., Posohov, S. I., Kovrov, G. V., & Bashmakov, M. Ju. *Sleep disorders*. St. Petersburg: MNA, pp. 56-61. [in Russian].
- [13] Crnko, S., Du Pré, B., Sluijter, J., & Van Laake, L. (2019). Circadian rhythms and the molecular clock in cardiovascular biology and disease. *Nature Reviews Cardiology*, 16(7), 437-447. doi: 10.1038/s41569-019-0167-4
- [14] Jahno, N. N., Zaharov, V. V. (2002). Kognitivnye i jemocionalno-afektivnye narushenija pri discirkuljatornoj jencefalopatii [Cognitive and emotional-affective disorders in discirculatory encephalopathy]. *Russian Medical Journal*, 12, 539-542. [in Russian].
- [15] Agabiti-Rosei, C., De Ciuceis, C., Rossini, C., Porteri, E., Rodella, L., & Withers, S. et al. (2014). Anticontractile activity of perivascular fat in obese mice and the effect of long-term treatment with melatonin. *Journal Of Hypertension*, 32(6), 1264-1274. doi: 10.1097/hjh.000000000000178
- [16] Bonnefont-Rousselot, D. (2014). Obesity and Oxidative Stress: Potential Roles of Melatonin as Antioxidant and Metabolic Regulator. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 14(3), 159-168. doi: 10.2174/1871530314666140604151452



# Characteristics of interleukin-4 gene (C-589T, rs2243250) polymorphism in children with bronchial asthma and allergic rhinitis with isolated or allergic rhinitis-induced comorbid malocclusion

T. Ye. Shumna<sup>\*A,C,D,E</sup>, O. S. Fedosieieva<sup>B,C,D</sup>, T. P. Zinchenko<sup>B,C,D</sup>, S. M. Nedelska<sup>F</sup>,  
O. V. Voznyi<sup>F</sup>, O. M. Kamyshnyi<sup>C,F</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

**Purpose.** To determine the frequency of interleukin-4 (IL-4) (C-589T, rs2243250) single nucleotide polymorphism in children with bronchial asthma (BA) and allergic rhinitis (AR) and with isolated or allergic rhinitis-induced comorbid malocclusion.

**Materials and methods.** Single nucleotide polymorphism of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene was analyzed in 170 children aged between 6 and 17 years, 11 months, 29 days. Group I included 89 children with BA; Group II consisted of 31 children with AR; Group III was composed of 27 children with AR and distal occlusion (DO); Group IV comprised 23 children with malocclusion. Genotyping was performed using a commercial “SNP-express RT” kit by real-time polymerase chain reaction method (Applied Biosystems, USA) via TagMan<sup>®</sup>SNP Genotyping Assay on an amplifier CFX96<sup>™</sup> Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA).

DNA was isolated using a commercial DNA-express kit (“LLC Research and Production Company LITEKH”). The general, recessive and dominant models of inheritance and the odds ratios with a 95 % confidence interval were used for the analysis. The results analysis was conducted using the Statistica 6.0 RU licensed software package.

**Results.** IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children with allergy and malocclusion living in Zaporizhzhia was analyzed for the first time.

The frequency of C/C – C/T – T/T genotypes registration was 69.66 % – 22.47 % – 7.87 % of cases in children with BA; 58.06 % – 38.71 % – 3.23 % in children with AR; 62.96 % – 29.63 % – 7.40 % in AR with DO. On the contrary, in children with malocclusion, the C/C (34.78 %) and T/T (4.35 %) genotypes were registered less frequently and the C/T genotype (60.87 %) was recorded more often as a genetic feature of the DO phenotype.

**Conclusions.** The C/C genotype of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene was associated with bronchial asthma (OR = 4.31; 95 % CI = 1.63–11.36; P = 0.002) and allergic rhinitis (OR = 4.32 (95 % CI = 1.04–7.81; P = 0.04), in comparison with the fact that the C/T + T/T genotype indicated a predisposition to malocclusion development.

## Key words:

genetic polymorphism, interleukin-4, bronchial asthma, allergic rhinitis, orthodontic pathology, children.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 723–732

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186484

\*E-mail:  
tshumnaya72@  
gmail.com

## Характеристика поліморфізму гена інтерлейкіну-4 (C-589T, rs2243250) у дітей із бронхіальною астмою, алергічним ринітом і з ортодонтичною патологією, яка ізольована чи коморбідна з алергічним ринітом

Т. Є. Шумна, О. С. Федосєєва, Т. П. Зінченко, С. М. Недельська, О. В. Возний, О. М. Камишний

**Мета роботи** – визначити частоту однонуклеотидного поліморфізму гена інтерлейкіну-4 (IL-4) (C-589T, rs2243250) у дітей із бронхіальною астмою (БА), алергічним ринітом (АР) та з ортодонтичною патологією, що ізольована чи сформована на тлі алергічного риніту.

**Матеріали та методи.** Дослідження поліморфізму гена IL-4 (C-589T, rs2243250) виконали у 170 дітей віком від 6 до 17 років, 11 місяців, 29 днів. У I групу спостереження увійшли 89 дітей із БА; у II групу – 31 дитина з АР; у III групу – 27 дітей з АР і дистальним прикусом; у IV групу – 23 дитини з ортодонтичною патологією.

Генотипування здійснили методом полімеразної ланцюгової реакції «SNP-експрес-РВ», використовуючи набори реагентів ООО НПФ «Литех», TagMan<sup>®</sup>SNP Genotyping Assay на ампліфікаторі CFX96<sup>™</sup>Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», USA). Для аналізу використовували загальну, рецесивну та домінуючу моделі успадкування та показники «відношення шансів» з 95 % довірчим інтервалом. Результати опрацювали за допомогою ліцензійного пакета програми Statistica 6.0 RU.

**Результати.** Уперше в дітей із м. Запоріжжя з алергічною та ортодонтичною патологією дослідили поліморфізм гена IL-4 (C-589T, rs2243250). Частота реєстрації генотипів C/C – C/T – T/T становила в дітей із БА 69,66 % – 22,47 % – 7,87 %; з АР – 58,06 % – 38,71 % – 3,23 %; АР із дистальним прикусом – 62,96 % – 29,63 % – 7,40 % випадків. У дітей з ортодонтичною патологією рідше реєстрували генотипи C/C (34,78 %) та T/T (4,35 %), частіше – генотип C/T (60,87 %) як генетичну особливість фенотипу дистального прикусу.

**Висновки.** Генотип C/C гена IL-4 (C-589T, rs2243250) асоціювався з бронхіальною астмою (OR = 4,31; 95 % CI = 1,63–11,36; p = 0,002) та алергічним ринітом (OR = 4,32; 95 % CI = 1,04–7,81; p = 0,04), а генотипи C/T + T/T свідчили про схильність до розвитку ортодонтичної патології.

## Ключові слова:

генетичний поліморфізм, інтерлейкін-4, бронхіальна астма, алергічний риніт, ортодонтична патологія, діти.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 723–732

**Ключевые слова:**

генетический полиморфизм, интерлейкин-4, бронхиальная астма, аллергический ринит, ортодонтическая патология, дети.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 723–732

## Характеристика полиморфизма гена интерлейкина-4 (C-589T, rs2243250) у детей с бронхиальной астмой, аллергическим ринитом и с ортодонтической патологией, изолированной или коморбидной с аллергическим ринитом

Т. Е. Шумная, Е. С. Федосеева, Т. П. Зинченко, С. Н. Недельская, А. В. Возный, А. М. Камышный

**Цель работы** – определить частоту однонуклеотидного полиморфизма гена интерлейкина-4 (IL-4) (C-589T, rs2243250) у детей с бронхиальной астмой (БА), аллергическим ринитом (АР) и с ортодонтической патологией, изолированной или сформированной на фоне аллергического ринита.

**Материалы и методы.** Исследование полиморфизма гена IL-4 (C-589T, rs2243250) проведено у 170 детей в возрасте от 6 до 17 лет, 11 месяцев, 29 дней. В I группу наблюдения включены 89 детей с БА; во II группу – 31 ребенок с АР; в III группу – 27 детей с АР и дистальным прикусом; в IV группу – 23 ребенка с ортодонтической патологией. Генотипирование выполнили методом полимеразной цепной реакции «SNP-экспресс-ПВ» с использованием наборов реагентов ООО НПФ «Литех», TagMan®SNP Genotyping Assay на амплификаторе CFX96™Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», USA). Для анализа использовали общую, рецессивную и доминантную модели наследования и показатели «отношения шансов» с 95 % доверительным интервалом. Анализ результатов проведен при помощи лицензионного пакета программы Statistica 6.0 RU.

**Результаты.** Впервые у детей г. Запорожья с аллергической и ортодонтической патологией исследован полиморфизм гена IL-4 (C-589T, rs2243250). Частота регистрации генотипов C/C – C/T – T/T составила у детей с БА 69,66 % – 22,47 % – 7,87 %; с АР – 58,06 % – 38,71 % – 3,23 %; АР с дистальным прикусом – 62,96 % – 29,63 % – 7,4 % случаев. У детей с ортодонтической патологией реже регистрировали генотипы C/C (34,78 %) и T/T (4,35 %), чаще – генотип C/T (60,87 %) как генетическую особенность фенотипа дистального прикуса.

**Выводы.** Генотип C/C гена интерлейкина-4 (C-589T, rs2243250) ассоциировался с бронхиальной астмой (OR = 4,31; 95 % CI = 1,63–11,36; p = 0,002) и аллергическим ринитом (OR = 4,32 (95 % CI = 1,04–7,81; p = 0,04), а генотип C/T + T/T свидетельствовал о предрасположенности к развитию ортодонтической патологии.

### Introduction

The morbidity rate of allergic diseases has shown a continuous increase in Europe and in other regions of the world, that currently poses a serious challenge to modern pediatrics and requires further research [1]. Thus, the well-known population-based studies indicate that the frequency of allergic diseases just in teenagers fluctuates from 40.3 % to 71.1 %. The prevalence of bronchial asthma (BA) is 12.9 % and allergic rhinitis (AR) – 32.8 % [2,3]. In Germany, rhinitis was comorbidity of BA in 34.7 % of children, and in Barcelona (Spain), AR was combined with BA in 49.5 % of cases [4,5].

At the same time, in conditions of a high prevalence rate of malocclusion in children and adolescents, various dental anomalies and deformities represent up to 56.13–62.48 %, and in cases of nasopharyngeal diseases, including rhinitis, this figure increases to 86.08 ± 1.59 %. However, the frequency of malocclusion without concomitant pathology is much less and rates to 35.63–45.92 % of cases, which necessitates the study of isolated malocclusion and with AR comorbidity in children [6,7].

Allergic diseases and malocclusion, often combined with AR and coexisted with nasal obstruction or without it, are considered as a multifactorial diseases associated with single nucleotide polymorphism of genes. These diseases are manifested only in interaction between genetic aspects of pathology and environmental factors, a combined effect of which leads to the disease development and phenotypic changes. Nowadays, there is the theory that allergic diseases are caused by a violation of immune system regulation due to activation of CD4+ T helper type 2 lymphocytes and increased secretion of cytokines, including anti-inflammatory interleukin-4 (IL-4), which contributes to IgE synthesis, mast cells and eosinophils activation. As a result, allergic inflammation develops and secretion of other immunoglobulins is activated forming the humoral immune response [8].

The IL-4 gene is located on chromosome 5q31. More than 50 allelic variants of the IL-4 gene polymorphisms have been identified including rs2243250 (S589T) which is the most significant genetic polymorphism observed in the promoter site and characterized by the replacement of cytosine (C) with thymine (T). That is, single nucleotide polymorphism (SNP) in the coding region of the IL-4 receptor (IL-4R) C589T (rs2243250) determines the presence of C versus T at position 589 in the amino acid sequence. It has been studied that the T allele of IL-4 rs2243250 polymorphism can increase binding of nuclear transcription factors to the promoter region of the IL-4 gene, and thus this polymorphism is functionally important. IL-4R transmits signals into the cellular nucleus exerting biological functions and playing an important role in regulating not only IL-4 synthesis, but also estrogens, and influencing bone remodeling [8–10].

This work should confirm or disprove the hypothesis that the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism, which results in the replacement of C with T at position 589 in the cytoplasmic domain of the mature protein, is associated with allergic diseases and more often recorded in children with BA and / or AR than in children with distal occlusion (DO) without allergic diseases.

### Purpose

To determine the frequency of interleukin-4 (IL-4) (C-589T, rs2243250) SNP in children with respiratory forms of allergic diseases (BA and AR) and with isolated or AR-induced comorbid malocclusion.

### Materials and methods

SNP of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene was analyzed in 170 children aged between 6 and 17 years, 11 months,

29 days. To confirm or disprove the hypothesis of genetic predisposition and association of the studied gene polymorphism with certain respiratory forms of allergic pathology and to clarify the causes of its comorbidity with AR or isolated malocclusion, 89 children with BA were included in Group 1; Group 2 consisted of 31 children with AR; Group III was composed of 27 children with AR and DO; Group IV comprised 23 children with DO without allergic pathology.

The inclusion criteria for enrolment into the study were diagnosed BA, AR, AR combined with DO, isolated DO; duration of allergic pathology 2 years or more; the absence of chronic pathology in the stage of decompensation. Exclusion criteria were acute infectious diseases; severe concomitant somatic and psychiatric pathology, congenital or acquired heart defects, malignant tumors; refusal of the patient and / or parents to participate in the study. Prior to starting the work, the children and their parents were timely informed of the study purpose, tasks, methods and gave written informed consent to participate in the study.

The IL-4 gene (C-589T, rs2243250) polymorphism was genotyped using a commercial "SNP-express RT" kit by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) according to the manufacturer's instruction (Applied Biosystems, USA). Genomic DNA was extracted from the whole venous blood of children using reagent kits ("LLC Research and Production Company LITEKH"), TagMan®SNP Genotyping Assay on the amplifier CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) at the Department of Molecular Genetic Studies of the Educational Medical

and Laboratory Center at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia (under the guidance of the Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology – MD, PhD, DSc, Professor O. M. Kamyshnyi). The  $\chi^2$  method ( $\alpha = 0.05$ ,  $df = 1$ ) was used to test whether the control sample distribution was in accordance with the Hardy-Weinberg equilibrium. To identify the association between the disease and the IL-4 gene (C-589T, rs2243250) polymorphism, the general, recessive and dominant inheritance models and odds ratio (OR) with a 95 % confidence interval (95 % CI) were used. The data obtained as a result of the study were processed using nonparametric methods of statistical analysis with the Statistica 6.0 RU software package.

## Results

In the work presented, we analyzed the distribution of polymorphism genotypes of the IL-4 (S-589T, rs2243250) gene in each study group depending on the nosology, namely, the presence of allergic pathology: BA, AR, comorbid DO induced by nasal obstruction due to AR and isolated malocclusion in the form of DO without allergic diseases.

Thus, in children of Group 1 with BA, the homozygous C/C genotype of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism was prevalent and recorded in 69.66 %. Accordingly, the homozygous variant T/T and heterozygous C/T were significantly less frequent, in 7.87 % and 22.47 % of cases, respectively. These data are presented in Fig. 1.

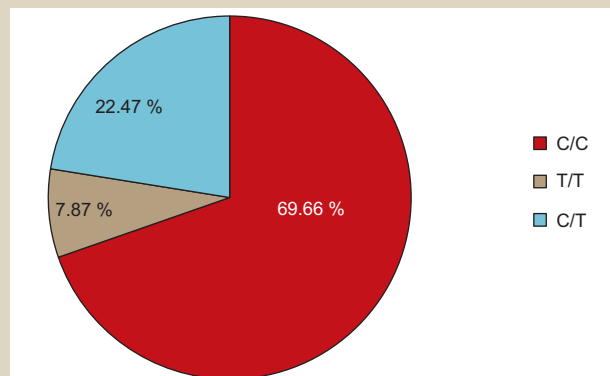


Fig. 1. Distribution of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in BA children.

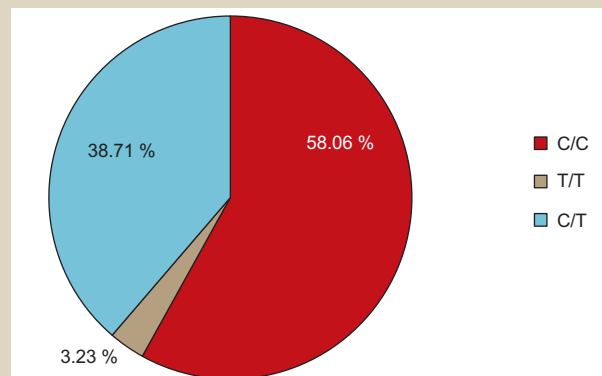


Fig. 2. Distribution of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in AR children

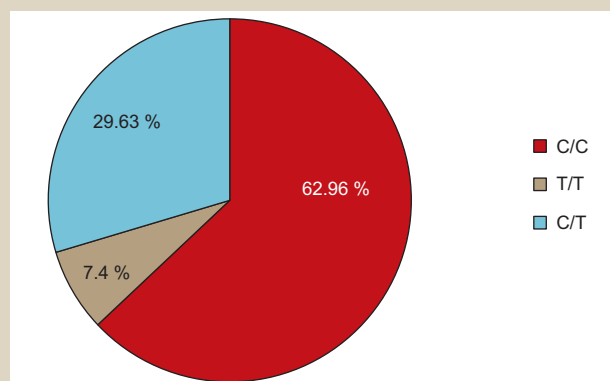


Fig. 3. Distribution of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children with AR and DO.

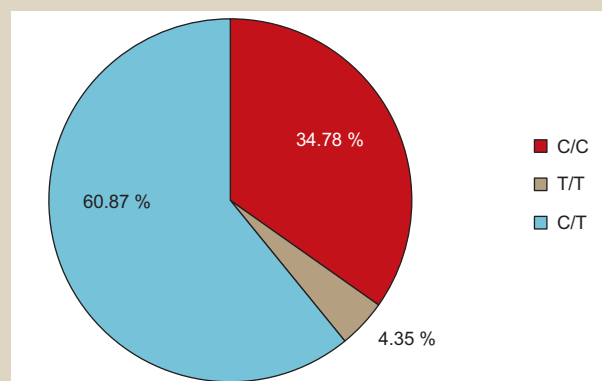


Fig. 4. Distribution of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children with DO.

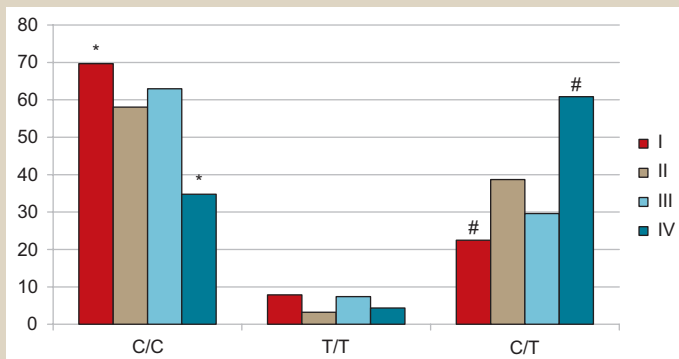


Fig. 5. Distribution of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in the examined children.

\*:  $P < 0.05$  – the difference is significant between the C/C genotype frequency in Group 1 and 4;  
#:  $P < 0.05$  – the difference is significant between the C/T genotype frequency in Group 1 and 4).

Table 1. Distribution of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in the examined children according to the general inheritance model (chi-square test,  $df = 2$ )

Groups (n)	Genotype C/C	Genotype C/T	Genotype T/T
1 (n = 89)	0.697	0.225	0.079
2 (n = 31)	0.581	0.387	0.032
3 (n = 27)	0.630	0.296	0.074
4 (n = 23)	0.348	0.609	0.043
1–2	$\chi^2 = 0.48, P = 0.18$ OR = 1.66; 95 % CI [0.71–3.86]	OR = 0.46; 95 % CI [0.19–1.10]	OR = 2.56; 95 % CI [0.30–21.69]
1–3	$\chi^2 = 0.58, P = 0.75$ OR = 1.35; 95 % CI [0.55–3.33]	OR = 0.69; 95 % CI [0.26–1.81]	OR = 1.07; 95 % CI [0.21–5.47]
1–4	$\chi^2 = 12.75, P = 0.002$ OR = 4.31; 95 % CI [1.63–11.36]	OR = 0.19; 95 % CI [0.07–0.49]	OR = 1.88; 95 % CI [0.22–16.08]
2–3	$\chi^2 = 0.89, P = 0.64$ OR = 0.81; 95 % CI [0.28–2.35]	OR = 1.50; 95 % CI [0.50–4.50]	OR = 0.42; 95 % CI [0.04–4.87]
2–4	$\chi^2 = 2.88, P = 0.24$ OR = 2.60; 95 % CI [0.85–7.92]	OR = 0.41; 95 % CI [0.13–1.23]	OR = 0.73; 95 % CI [0.04–12.38]
3–4	$\chi^2 = 4.92, P = 0.09$ OR = 3.19; 95 % CI [1.00–10.17]	OR = 0.27; 95 % CI [0.08–0.88]	OR = 1.76; 95 % CI [0.15–20.76]

Table 2. Distribution of IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in the examined children according to the general inheritance model (chi-square test,  $df = 2$ )

Groups (n)	Genotype C/C	Genotype C/T	Genotype T/T
BA (n = 89)	0.697	0.225	0.079
AR (n = 58)	0.603	0.345	0.052
DO (n = 23)	0.348	0.609	0.043
BA – AR	$\chi^2 = 2.70, P = 0.26$ OR = 1.51; 95 % CI [0.75–3.02]	OR = 0.55; 95 % CI [0.26–1.15]	OR = 1.57; 95 % CI [0.39–6.31]
BA – DO	$\chi^2 = 12.75, P = 0.002$ OR = 4.31; 95 % CI [1.63–11.36]	OR = 0.19; 95 % CI [0.07–0.49]	OR = 1.88; 95 % CI [0.22–16.08]
AR – DO	$\chi^2 = 4.78, P = 0.09$ OR = 2.85; 95 % CI [1.04–7.81]	OR = 0.34; 95 % CI [0.12–0.92]	OR = 1.20; 95 % CI [0.12–12.17]

In children of Group 2 with AR, the homozygous C/C genotype also dominated and it was registered in more than half of children (58.06 %). A bit more than one third of these children (38.71 %) showed the heterozygous C/T variant of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism, and the homozygous T/T variant was detected only in 3.23 % of cases, as shown in Fig. 2.

In children included in Group 3 with AR and DO as in the previous groups, the C/C and C/T variants of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism prevailed representing 62.96 % and 29.63 % of children, respectively. In this case, the T/T genotype was registered only in 7.40 %. These data are shown in Fig. 3.

In children of Group 4 without allergic pathology and only with isolated DO, the homozygous T/T genotype was found only in 4.35 % of children with DO (Fig. 4). Conversely, unlike previous examined groups, the heterozygous C/T genotype was dominant and recorded in 60.87 % of patients only with malocclusion, but significantly more often than in BA children (14/23 vs. 20/89, Yates corrected Chi-square = 10.99,  $P = 0.0009$ ). The homozygous C/C variant was registered in 34.78 % of patients with malocclusion, significantly less than in BA children (8/23 vs. 62/89, Yates corrected Chi-square = 8.06,  $P = 0.0045$ ). The comparative characteristic of each genotype frequency in IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism depending on the presence or absence of BA, AR, AR with DO or only malocclusion in the examined children is presented in Fig. 5.

Further, the general inheritance model was used to study a genetic predisposition based on the presence or absence of associations between the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism and multifactorial allergic diseases development (BA, AR), AR combined with DO or only DO without an allergic pathology after testing the samples to detect the Hardy-Weinberg equilibrium (Table 1).

The data presented above refuted our hypothesis concerning C with T (C-589T) replacement. It can be seen that the C/C genotype was associated with BA development (OR = 4.31; 95 % CI [1.63–11.36],  $\chi^2 = 12.75, P = 0.002$  and there was a tendency to C/C genotype predominance in children with AR and comorbid DO unlike in children without allergy but with malocclusion (OR = 3.19, 95 % CI [1.00–10.17],  $\chi^2 = 4.92, P = 0.09$ ).

Taking into account that there were not significant differences in the distribution of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism between children in Group 2 and 3 (with AR and AR with DO), therefore these children were grouped together as patients with AR. The analysis of genotypes distribution between groups of children with BA, AR and DO was repeated (Table 2).

However, these data were consistent with the findings that the C/C genotype of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism was significantly prevalent in BA children (OR = 4.31; 95 % CI [1.63–11.36],  $\chi^2 = 12.75, P = 0.002$  (actual) and in all children with both AR and AR with malocclusion comorbidity (OR = 2.85; 95 % CI [1.04–10.17],  $\chi^2 = 4.78, P = 0.09$  (as the tendency) compared to the group of children with DO without allergic pathology).

Therefore, in order to clarify an association between the genotype and allergic pathology or malocclusion development in the examined children, the recessive and dominant inheritance models (Tables 3–6) were also analyzed.

**Table 3.** Recessive inheritance model of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children with BA and DO (chi-square test, df = 1)

Genotypes	BA	DO	$\chi^2$	P	OR	
	n = 89	n = 23			value	95 % CI
Genotype C/C	0.697	0.348	9.49	0.002	4.31	1.63–11.36
Genotype C/T+T/T	0.303	0.652			0.23	0.09–0.61

**Table 4.** Dominant inheritance model of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children with BA and DO (chi-square test, df = 1)

Genotypes	DO	BA	$\chi^2$	P	OR	
	n = 23	n = 89			value	95 % CI
Genotype C/C	0.348	0.697	9.49	0.002	0.23	0.09–0.61
Genotype C/T+T/T	0.652	0.303			4.31	1.63–11.36

**Table 5.** Recessive inheritance model of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children with AR and DO (chi-square test, df = 1)

Genotypes	AR	DO	$\chi^2$	P	OR	
	n = 58	n = 23			value	95 % CI
Genotype C/C	0.603	0.348	4.32	0.04	2.85	1.04–7.81
Genotype C/T+T/T	0.397	0.652			0.35	0.13–0.96

**Table 6.** Dominant inheritance model of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children with AR and DO (chi-squared test, df = 1)

Genotypes	DO	AR	$\chi^2$	P	OR	
	n = 23	n = 58			value	95 % CI
C/C genotype	0.348	0.603	4.32	0.04	0.35	0.13–0.96
C/T+T/T genotype	0.652	0.397			2.85	1.04–7.81

While analyzing the study results, it was considered that children with the C/C genotype of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism had a relative risk of developing BA at any time of life. In addition, DO predisposition as an isolated malocclusion ( $P = 0.002$ ) with OR = 4.31 (95 % CI = 1.63–11.36) was noted in children with the C/T + T/T genotype.

These data also identified an association between a relatively high risk of developing malocclusion in children ( $P = 0.04$ ) OR = 4.32 (95 % CI = 1.04–7.81) and both the C/C genotype, as a potential marker of AR, and the C/T + T/T genotype of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism.

Therefore, summarizing the results of the conducted study, it can be stated that allergic pathology such as BA and AR in children was associated with the C/C genotype (69.7 % and 60.3 %) while malocclusion – with the C/T + T/T genotype (65.2 %) of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism. Therefore, it can be assumed that children with the C/C genotype had DO with comorbid AR induced by nasal obstruction of allergic genesis, and malocclusion was formed initially in children with the C/T + T/T genotype.

## Discussion

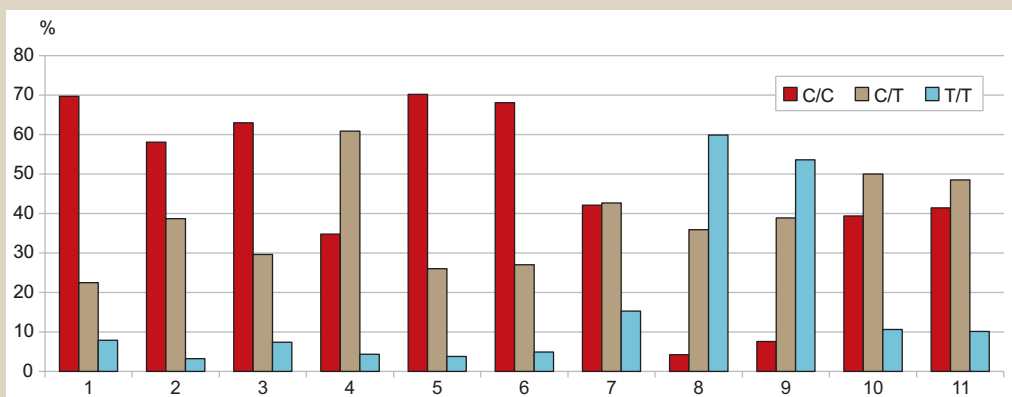
Then, we compared and presented in Fig. 6 our data on the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism distribution in each study group with known widely varied data of population studies [11].

So, the comparison of genotype frequencies between the examined children of Zaporizhzhia (ZP) and children from Europe (EUR), South Asian (SAS), Admixed Ame-

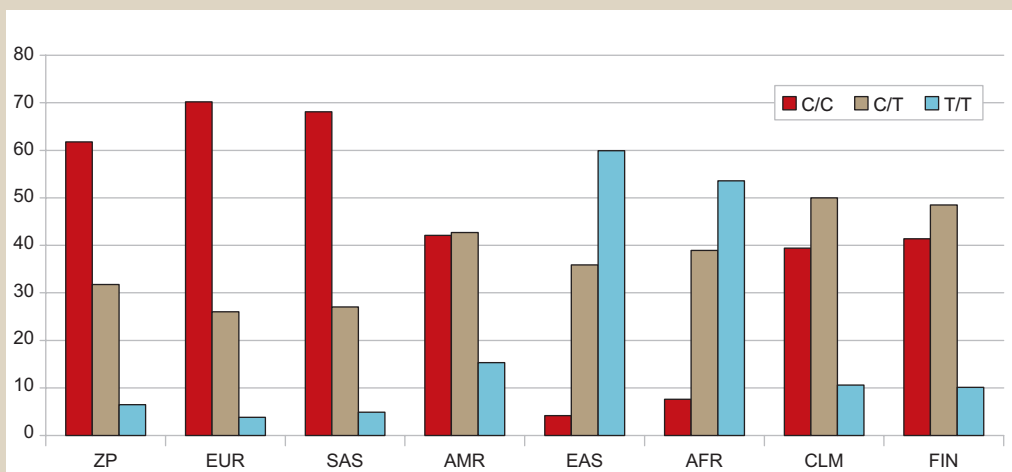
rican (AMR), East Asian (EAS), Africa (AFR), Colombians from Medellin, Colombia (SLM), Finland (FIN), showed that the C/C – C/T – T/T genotype frequencies in children of Zaporizhzhia with BA (69.66 % – 22.47 % – 7.87 %), AR (58.06 % – 38.71 % – 3.23 %) and AR comorbid with DO (62.96 % – 29.63 % – 7.40 %) were almost matched the frequency in Europe (70.2 % – 26.0 % – 3.8 %) and South Asian (68.1 % – 27.0 % – 4.9 %). At the same time, the C/C – T/T – T/T genotype frequencies in children from Zaporizhzhia with malocclusion (34.78 % – 60.87 % – 4.35 %) partially matched those in Colombians from Medellin, Colombia (39.4 % – 50.0 % – 10.6 %) and Finland (41.4 % – 48.5 % – 10.1 %).

The genotyping performed for all the examined children generally showed that the homozygous C/C genotype, registered in 61.76 % (105/170) cases, was the dominant one. The heterozygous C/T and the homozygous T/T genotypes were less common, in 31.76 % (54/170) and 6.44 % (11/170) of children, respectively. Meanwhile, our data matched the indicators in Europe and South Asian, as the C/C, C/T and T/T genotype frequencies were 70.2 % and 68.1 %, 26.0 % and 27.0 %, 3.8 % and 4.9 % of cases, respectively, in these populations (Fig. 7). A large variability in the incidence rate of C/C–C/T–T/T genotypes of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism was noted among the populations of Admixed American (42.1 % – 42.7 % – 15.3 %), East Asian (4.2 % – 35.9 % – 59.9 %), Africa (7.6 % – 38.9 % – 53.6 %) [11].

These data show that hereditary features of immunopathogenesis can be found in different population groups, which are of both theoretical and practical interest for further study.



**Fig. 6.** Genotype frequencies of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in children of different observational groups and population studies, where: 1 – ZP (BA); 2 – ZP (AR); 3 – ZP (AR+DO); 4 – ZP (DO); 5 – EUR; 6 – SAS; 7 – AMR; 8 – EAS; 9 – AFR; 10 – CLM; 11 – FIN.



**Fig. 7.** Frequency of the IL-4 (C-589T, rs2243250) gene polymorphism in all the examined children and in population studies.

It is worth mentioning that we have obtained study results different from our initial hypothesis. Further analysis of information related to this problem has shown all its complexity focusing on issues to study SNP located in the promoter region of the IL-4 gene (C-589T, rs2243250) and determining C versus T presence in different positions of amino acid sequence as well as in relation to other chromosomal regions and segments.

Thus, according to V. B. Ivanova, in children with atopic BA living in Krasnoyarsk, SNP C-590 T of the IL-4 gene (rs2243250) was genotyped. As a result, the homozygous C/C and T/T variants were recorded in 52.38 % and 6.67 % of cases, respectively, while the heterozygous C/T variant was found in 42.38 % of patients, that is, almost two times more frequently than in our study. However, this study also showed that the T/T genotype frequency was 9.2 % in the group of patients with uncontrolled BA and it was higher than in children with controlled BA (3.9 %) [12].

Nevertheless, in the genotypes of other populations, for example, the Mauritian Indian and Chinese Han populations, there was no significant association between C-590 T of the IL-4 gene and BA development as well as no significant differences were observed when comparing these groups based on distribution of polymorphisms IL-4 -590 C/T [13].

At the same time, it is known that in Brazilian adolescents with allergic pathology and sensitization to domestic allergens, the C/T and T/T genotypes of IL-4-590 rs2243250 were recorded in 10.2 % and 42.9 % of cases, respec-

tively, against 43.1 % and 13.8 % in healthy children [2]. Gurieva L. L. also believes that a biological marker for a high risk of developing atopic BA without associated allergic diseases is the T allele of the SNP C-590> T in the IL-4 gene (OR = 1.59; CI 95 % = 1.02–2.48) [14].

But in the studies of Smolnikova M. V. et al., as well as in our study, it was shown that the C/C genotype of IL-4 (rs2243250; rs2070874) can be a genetic marker for risk of developing both controlled (RR 0.26; SE 0.38; P = 0.0008) and uncontrolled (RR 0.3; SE 0.38; P = 0.0018) atopic asthma [15].

The children with infectious-dependent BA were more likely to have the heterozygous C/T genotype of the IL-4 (C-589T) gene constituting 54.05 %. In addition, this genotype was a predictor of severe infectious-dependent BA, resistant to anti-inflammatory therapy [16].

Furthermore, E. A. Khotko and A. D. Taganovych presented a detailed analysis of reference data on the role of gene polymorphism, including the IL-4 gene, responsible for the production of pathogenetically important proteins in immunocompetent cells of patients with chronic obstructive pulmonary diseases [17]. There are also data evidencing a greater susceptibility to the risk of developing chronic obstructive pulmonary diseases in individuals, IL-4 – 589T allele carriers, from the Kazakh population [18].

Under industrial pollution conditions, genotyping of IL-4 – C-589T (rs2243250) SNP among adult patients with occupational BA, asbestosis, and occupational chronic obstructive pulmonary disease revealed that 56.4 % of patients

with occupational asthma had homozygous T/T variant of the IL-4 gene in the presence of concomitant infection of the nasopharynx, neutrophilic inflammation and destructive radiographic changes. This allowed scientists to suggest that the homozygous genotype T/T of the SNP C-589T of the IL-4 gene presence contributes to a long-term circulation of pro-inflammatory cytokines elevated levels. This, in turn, leads not only to destructive processes in the lungs progression, but also to chronic inflammation confirming the association between IL-4 T allele and an inflammatory process activation and maintenance. The association between the T allele of the IL-4 as well as an increased level of systemic inflammatory markers and a higher degree of respiratory failure was also detected in workers exposed to industrial aerosols. Thus, in asbestosis, the presence of T allele IL-4 increased the risk of developing II–III degree respiratory failure by 5.2 times (OR = 5.217, 95 % CI = 1.115–24.407). Therefore, the IL-4 C589T (rs2243250) gene polymorphism identification allowed to identify the risk groups for more severe forms of occupational bronchopulmonary diseases development [19].

There are slightly less studies of the IL-4 gene polymorphism in patients with AR. Thus, when studying SNPs of the IL-4 (rs2243248, rs2243250 and rs2070874) in 98 patients with AR, it was found that C/C genotype in (rs2070874) was significantly correlated with AR development, and SNPs of the IL-4 could change the clinical picture of the disease [20].

In Poland, Barbara Korzycka-Zaborowska with colleagues showed that the (590 C/T) IL-4 gene polymorphism was associated with AR in 15.3 % of patients, compared with 5.8 % of examined controls without AR,  $\chi^2 = 4.368$ ;  $P < 0.05$  [21]. In a study of other scientists, the risk of developing AR was associated with the IL-4 gene -590 TT genotype [OR = 1.93, 95 % CI (1.61–2.31),  $P = 0.00$ ] and the TT+TC unlike CC genotype of IL-4 C-33/T polymorphism was significantly associated with allergic diseases [OR = 3.23, 95 % CI (1.13–9.25),  $P = 0.03$ ] [22].

In Pakistan, genotyping for SNP IL-4 C-589T (rs2243250), T + 2979G (rs2227284) and C-33T (rs2070874) was performed in 108 patients with BA and 106 with AR. Although we studied SNP C-589T (rs2243250) of the IL-4 gene, but unlike our results, S. Micheal and colleagues showed that C/C genotype was recorded in 24.1 % of BA patients, C/T – in 58.3 % and T/T – in 17.6 %. Concurrently, in children with allergic rhinitis, the C/C genotype was detected in 17 % of cases; C/T – in 58.5 %; T/T – in 24.55 %. Therefore, SNP C-589T (rs2243250) of the IL-4 was significantly associated with both BA ( $\chi^2 = 11.0$ ;  $P = 0.004$ ) and AR ( $\chi^2 = 20.2$ ;  $P < 0.001$ ). In addition, the polymorphism T+2979G (rs2227284) of the IL-4 gene was also related to genetic risk factors for the developing asthma and AR in Pakistan. But, unlike previous studies, there were no significant differences between the groups of patients with both BA and AR and the control group when studying the SNP C-33T (rs2070874) of the IL-4 gene [23].

We have not found data regarding the polymorphism (C-589T, rs2243250) of the IL-4 gene detection in children with malocclusion in the scientific literature available today. Nevertheless, E. Sh. Hryhorovych studied the molecular genetic basis for periodontitis development in dental patients and showed that the IL-4 gene polymorphism is one

of the predictors of chronic generalized periodontitis, which was associated with a dense mononuclear inflammatory infiltrate, represented by CD4, CD8, CD20 T lymphocytes combined with a large number of CD45RO memory T lymphocytes, CD68 macrophages and intensive neutrophilic infiltration [24].

However, a part of the paradontium is periodontal tissue, which in left untreated dental caries may develop an inflammatory complication such as periodontitis. On the one hand, it independently contributes to various malocclusions that, on the other hand, could be a negative consequence of being edentulous after periodontitis-related dental extraction when myodynamics is disturbed. It was demonstrated that complications of temporary teeth caries were found in more than 2/3 of children and it was the leading cause of defects in the dentition ( $16.3 \pm 3.6$  % of cases). Early tooth loss and related defects resulted in various dental anomalies in  $61.7 \pm 4.8$  % of children [25].

The work of A. Z. Isamulaeva et al. covers the influence of genetic polymorphisms on the grade of inflammation, which is a promising direction for early diagnosis, comprehensive assessment of dental status in somatic patients with damage to dental hard tissues, paradontium and oral mucous membranes and the rationale for new therapeutic and preventive measures [26].

Furthermore, modern scientific studies have confirmed that the IL-4 gene polymorphism influence IL-4 and other cytokines production regulating immune responses that directly associated with caries and periodontitis development [27–29].

At the same time, the T allele (OR = 1.2, 95 % CI = 1.02–1.42,  $P = 0.03$ ) and the T/T genotype (OR = 1.68, 95 % CI = 1.05–2.67,  $P = 0.03$ ) of the IL-4 gene (C -590T) were associated with periodontitis in whites, and only the T/T genotype was associated with periodontitis in Caucasians (T/T vs C/T: OR = 1.75, 95 % CI = 1.10–2.78,  $P = 0.02$ ) [30,31]. These data confirm, on the one hand, that the genotype frequencies in studied polymorphism of the IL-4 gene are varied among different populations; on the other hand, it is the basis of a personalized approach to patients and long-term treatment programs implementation.

Of great interest is the wide range of studies devoted to determining the role of SNP (C589T, rs2243250) of the IL-4 gene in disease occurrence.

Thus, the T allele frequency and the homozygous T/T genotype prevailed in children with acute respiratory tract infections (pneumonia, bronchiolitis) living in Egypt (OR = 1.3; 95 % CI = 1.07–1.56,  $P < 0.01$  and OR = 2.0; 95% CI = 1.38–2.96, respectively) [32]. In patients with whooping cough, the homozygous T/T genotype (C589T) of the IL-4 gene frequency was higher than in healthy ones, and more than half of patients suffering from pyelonephritis (52.7 %) were carriers of the heterozygous C/T variant of this gene polymorphic region [33,34].

Chronic hepatitis C patients with the homozygous T/T genotype (C-589T) of the IL-4 gene showed more pronounced fibrous changes in the liver than the homozygous C/C genotype carriers ( $P < 0.01$ ) [35]. In patients with ischemic heart disease and coronary atherosclerosis, the C589T frequencies of the IL-4 genotype ( $P = 0.04$ ; OR = 4.09) and 589T alleles ( $P = 0.04$ ; OR = 2.45) were statistically significantly increased [36].

Scientists also took into account the possible risk of developing oncopathology associated with IL-4 genotypes and different sensitivity to chemotherapy for malignant tumors of the female reproductive organs, as well as for breast cancer [37,38].

Comparison of our study results with scientific literature data has proved different effects of the studied mutations of the IL-4 gene on the peculiar features of associative prognostic links with various diseases, which in the long term justifies the need for further research in this area.

## Conclusions

1. The polymorphism of the interleukin-4 gene C-589T, rs2243250) has been investigated for the first time in children with respiratory forms of allergy (bronchial asthma and allergic rhinitis) and with isolated or allergic rhinitis-induced comorbid malocclusion living in the city of Zaporizhzhia.

2. The C/C – C/T – T/T genotype frequencies have been calculated in children: with bronchial asthma 69.66 % – 22.47 % – 7.87 %; with allergic rhinitis – 58.06 % – 38.71 % – 3.23 %; allergic rhinitis with distal occlusion – 62.96 % – 29.63 % – 7.40 % of the examined cases, which were matched their frequency in European and South Asian populations.

3. The C/C – C/T – T/T genotypes in children with malocclusion had the following distribution: 34.78 % – 60.87 % – 4.35 % of the examined cases, and the heterozygous C/T genotype prevalence indicated the presence of genetic features of distal occlusion phenotype formation.

4. The inheritance models analysis showed that the C/C genotype of the interleukin-4 gene (C-589T, rs2243250) was associated with bronchial asthma (OR = 4.31; 95 % CI = 1.63–11.36; P = 0.002) and allergic rhinitis (OR = 4.32; 95 % CI = 1.04–7.81; P = 0.04) in comparison with the fact that the C/T + T/T genotype indicated a predisposition to malocclusion development.

**Prospects for further researches.** In the future, we will focus on the analysis of presented genotypes frequency depending on the severity, stage, clinical and laboratory features of these diseases course.

## Funding

The study presented is a fragment of the scientific and research work of Zaporizhzhia State Medical University: "Optimization of differential diagnostics and treatment of allergic and other diseases in children of different ages", state registration number 0118U004254 (2018–2022).

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 28.05.2019  
Після доопрацювання / Revised: 16.07.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 01.08.2019

## Information about authors:

Shumna T. Ye., MD, PhD, DSc, Professor of the Faculty Pediatrics Department, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Fedosieieva O. S., MD, Postgraduate student, Department of Faculty Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Zinchenko T. P., MD, Assistant of the Department of Therapeutic, Orthopedic and Pediatric Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Nedelska S. M., MD, PhD, DSc, Professor, Department of Faculty Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Voznyi O.V., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Therapeutic, Orthopedic and Pediatric Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kamyshnyi O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Microbiology, Virology and Immunology Department, Head of the Molecular-Genetic Research Division of the Medical and Laboratory Center, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про авторів:

Шумна Т. Є., д-р мед. наук, професор каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Федосєєва О. С., аспірант каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Зінченко Т. П., асистент каф. терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Недельська С. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Возний О. В., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Камішний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології і імунології, керівник відділу молекулярно-генетичних досліджень навчального медико-лабораторного центру, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Шумная Т. Е., д-р мед. наук, профессор каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Федосеева Е. С., аспирант каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина;

Зинченко Т. П., ассистент каф. терапевтической, ортопедической и детской стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Недельская С. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Возный А. В., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. терапевтической, ортопедической и детской стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, руководитель отдела молекулярно-генетических исследований учебного медико-лабораторного центра, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- [1] Besh, L. V., Lasytsia, T. S., & Besh, O. M. (2017). Bronchialna astma v praktytsi simeinoho likaria: suchasni standarty bazysnoi farmakoterapii [Bronchial asthma in family physician practice: current standards of basic pharmacotherapy]. *Allergy in a child*, 21/22, 8-10. [in Ukrainian].
- [2] Caniatti, M., Marchioro, A., Guilherme, A., & Tsuneto, L. (2014). Association of Cytokines in Individuals Sensitive and Insensitive to Dust Mites in a Brazilian Population. *PLOS ONE*, 9(9), e107921. doi: 10.1371/journal.pone.0107921
- [3] Christiansen, E., Kjaer, H., Eller, E., Bindslev-Jensen, C., Høst, A., Mortz, C., & Halken, S. (2016). The prevalence of atopic diseases and the patterns of sensitization in adolescence. *Pediatric Allergy And Immunology*, 27(8), 847-853. doi: 10.1111/pai.12650
- [4] Jacob, L., Keil, T., & Kostev, K. (2016). Comorbid disorders associated with asthma in children in Germany – National analysis of pediatric primary care data. *Pediatric Allergy And Immunology*, 27(8), 861-866. doi: 10.1111/pai.12656



- [5] Langdon, C., Guilemany, J., Valls, M., Alodib, I., Bartra, J., & Dávila, I. et al. (2016). Allergic rhinitis causes loss of smell in children: The OLFAPEDRIAL study. *Pediatric Allergy And Immunology*, 27(8), 867-870. doi: 10.1111/pai.12655
- [6] Shamsidinov, A. T., Fajzov, K. S., Tanzhoholov, U. H., & Ismoilov F. N. (2016). Sistema rannego vyjavlenija i reabilitacii detej i podrostkov goroda Dushanbe s zubocheľustnymi anomalijami [System for early detection and rehabilitation of children and adolescents with dentoalveolar anomalies in Dushanbe]. *Herald of institute of postgraduate education in health sphere*, 1. Retrieved from <http://www.vestnik-ipovszrt.tj/?p=2315>. [in Russian].
- [7] Shamov, S. M. (2013). Vzaimosvjaz obshheshomatičeskoj patologii i zubocheľustnyh anomalij u detej i podrostkov Respubliki Dagestan [The relationship between somatic pathology and in children and adolescents in Dagestan]. *Kuban Scientific Medical Bulletin*, 6(141), 193-195. [in Russian].
- [8] Attia, M., & Saber, H. (2014). Role played by T-helper 2 in resetting the cytokine balance in allergic patients. *The Egyptian Journal Of Internal Medicine*, 26(3), 124-129. doi: 10.4103/1110-7782.145311
- [9] Puhlik, B. M. (2017). Problemy nasledstvennosti v voznikovenii allergičeskikh zabolovanij [Hereditary problems in the occurrence of allergic diseases]. *Klinična imunologija. Alerholohija. Infektologija*, 1(98), 29-32. Retrieved from <https://kiai.com.ua/ru-issue-article-1389/> Problemy-nasledstvennosti-v-voznikovenii-allergičeskikh-zabolovanij. [in Russian].
- [10] Golovatjuk, E. P. (2017). Rol polimorfizmov genov IL-4 i IL-17 v privyčnom nevnashivanii beremennosti, nastupivšej v ciklah VRT [Role of gene polymorphism of il-4 and il-17 in recurrent miscarriage, came in art cycles]. *Reproductive Endocrinology*, 1(33), 28-31. [in Russian].
- [11] *Ensembl*. Retrieved from <http://www.ensembl.org/index.html>.
- [12] Ivanova, V. B. (2017). *Assoציacii polimorfnyh genov immunnogo otveta so stepenju tjazhesti i urovnem kontrolja atopičeskoj bronhialnoj astmy* (Dis. magister.). [Associations of polymorphic genes of the immune response with the severity and level of control of atopic bronchial asthma. Mast. diss.]. Krasnoyarsk. Retrieved from <http://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/69113>. [in Russian].
- [13] Ramphul, K., Lv, J., Hua, L., Liu, Q., Fang, D., & Ji, R. et al. (2014). Single nucleotide polymorphisms predisposing to asthma in children of Mauritian Indian and Chinese Han ethnicity. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, 47(5), 394-397. doi: 10.1590/1414-431x20143751
- [14] Gureva, L. L. (2015). Prognozirovanie kontrolja atopičeskoj bronhialnoj astmy v detskom vozraste. (Avtoref. dis... dok. med. nauk). [Prediction of childhood atopic asthma control]. (Extended abstract of candidate's thesis). Samara. [in Russian].
- [15] Smolnikova, M. V., Frejdim, M. B., & Smirnova, S. B. (2017). Geny citokinov kak genetičeskie markery atopičeskoj bronhialnoj astmy s kontroliruemym i nekontroliruemym tečeniem [Cytokine genes as genetic markers of controlled and uncontrolled atopic bronchial asthma]. *Medical Immunology (Russia)*, 19(5), 605-614. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-605-614 [in Russian].
- [16] Kostina, E. M., Molotilov, B. A., Levashova, O. A., & Osipova, M. V. (2013). Izučenie polimorfizma genov citokinov IL-4, IL-10, IL-17A i TNFA u bolnyh s infekcionno-zavisimoj bronhialnoj astmoj [The study of polymorphism of cytokine genes IL-4, IL-10, IL-17A and TNFA in patients with infectious dependent bronchial asthma]. *Immunopathology, allergology, infectology*, 1, 53-58. [in Russian].
- [17] Hotko, E. A., & Taganovich, A. D. (2016). Polimorfizm genov receptorov i ih ligandov pri hroničeskoj obstruktivnoj bolezni legkih [Gene polymorphism of receptors and their ligands in chronic obstructive pulmonary disease]. *Medical Journal*, 3, 36-42. [in Russian].
- [18] Akparova, A. Ju., Bersimbaj, R. I., Bekmanov, B. O., Eshhzhano, T. E., & Abishev, M. T. (2012). Rol genov citokinov IL-4 i TNF-A v razvítii predispozozhennosti k bronhialnoj astme i hroničeskoj obstruktivnoj bolezni legkih [The role of the cytokine genes IL4 and TNF-a in the development of a predisposition to bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease]. *Molecular and genetic research methods in medicine and biology*. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. (pp. 15-22). Karaganda. [in Russian].
- [19] Kuzmina, L. P., Hotuleva, A. G., Anohin, N. N., & Anvarul N. A. (2018). Genetičeskij polimorfizm protivovospalitelnyh citokinov v ocenke riska razvítija i prognoza tečeniya professionalnoj bronholegočnoj patologii [Genetic polymorphism of anti-inflammatory cytokines in assessing developmental risk and prognosis of the course of occupational bronchopulmonary pathology]. *Health and the environment*. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. (Vol. 1. pp. 157-158). Minsk. [in Russian].
- [20] Movahedi, M., Amirzargar, A., Nasiri, R., Hirbod-Mobarakeh, A., Farhadi, E., & Tavakol, M. et al. (2013). Gene polymorphisms of Interleukin-4 in allergic rhinitis and its association with clinical phenotypes. *American Journal Of Otolaryngology*, 34(6), 676-681. doi: 10.1016/j.amjoto.2013.05.002
- [21] Korzycka-Zaborowska, B., Zielińska-Bliźniewska, H., Zaborowski, A., & Olszewski, J. (2015). Association of -590 C/T IL-4 Gene Promoter Polymorphism With Atopy in Polish Patients With Allergic Rhinitis. *Allergy Disorders & Therapy*, 2(1), 1-3. doi: 10.24966/ad-749x/100004
- [22] Li, Z., Yin, L., Wang, H., & Liu, L. (2014). Association between promoter polymorphisms of interleukin-4 gene and allergic rhinitis risk: a meta-analysis. *Journal Of Huazhong University Of Science And Technology [Medical Sciences]*, 34(3), 306-313. doi: 10.1007/s11596-014-1275-3
- [23] Micheal, S., Minhas, K., Ishaque, M., Ahmed, F., Ahmed, A. (2013). IL-4 gene polymorphisms and their association with atopic asthma and allergic rhinitis in Pakistani patients. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 23(2), 107-111.
- [24] Grigorovich, Je. Sh. (2016). *Hroničeskij generalizovannyj parodontit: kliniko-morfologičeskie i molekularno-genetičeskie osnovy geterogenosti zabolovanija, obosnovanie prognoza i personalizacija terapii* (Dis... dokt. med. nauk.). [Chronic generalized periodontitis: clinical, morphological and molecular genetic foundations of disease heterogeneity, substantiation of prognosis and personification of therapy. Dr. med. sci. diss.]. Omsk. [in Russian].
- [25] Jahina, Z. H., Shirjak, T. Ju., & Kamalidinova, A. R. (2018). Vlijanie rannej poteri zubov na formirovanie zubocheľustnyh anomalij [Effect of early loss of teeth on formation of dental anomalies]. *Modern problems of science and education*, 2. Retrieved from <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27536>. [in Russian].
- [26] Isamulaeva, A. Z., Spicyna, A. V., Magomedov, Sh. Sh., Shatueva, S. Z., & Isamulaeva, A. I. (2014). Znachimost citokinovoj reguljacii v patogeneze zabolovanij polosti rta [The significance of cytokine regulation in the pathogenesis of oral diseases]. *Modern problems of science and education*, 6. Retrieved from <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=15411>. [in Russian].
- [27] Bartova, J., Borilova Linhartova, P., Podzimek, S., Janatova, T., Svobodova, K., & Fassmann, A. et al. (2014). The Effect of IL-4 Gene Polymorphisms on Cytokine Production in Patients with Chronic Periodontitis and in Healthy Controls. *Mediators Of Inflammation*, 1-11. doi: 10.1155/2014/185757
- [28] Anovazzi, G., Medeiros, M., Pigossi, S., Finoti, L., Mayer, M., & Rosa, C. et al. (2017). Functional Haplotypes in Interleukin 4 Gene Associated with Periodontitis. *PLOS ONE*, 12(1), e0169870. doi: 10.1371/journal.pone.0169870
- [29] Hejgetjan, A. V., Bragin, E. A., Maksjukov, S. Ju., Labushkina, A. V., Alutina Je. L., & Harseeva, G. G. (2015). Immunologičeskie pokazateli u bolnyh s kariesom kontaktnykh poverhnostej bokovyh zubov [The immunologic indicators in patients with caries of contact surfaces]. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 60(8), 52-54. [in Russian].
- [30] Yan, Y., Weng, H., Shen, Z., Wu, L., & Zeng, X. (2014). Association Between Interleukin-4 Gene -590 C/T, -33 C/T, and 70-Base-Pair Polymorphisms and Periodontitis Susceptibility: A Meta-Analysis. *Journal Of Periodontology*, 85(11), e354-362. doi: 10.1902/jop.2014.140317
- [31] JIA, Xiaowei, MA, Yan, ZENG, Xiantao, YUAN, Yadi, LIN, Yingmei, & SHAO, Jun et al. (2017). Association between -590C/T polymorphisms of interleukin-4 gene and periodontitis: A meta-analysis. *Journal of Prevention and Treatment For Stomatological Diseases*. 25(6), 354-359. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2017.06.003
- [32] Emam, A., Shehab, M., Allah, M., Elkoumi, M., Abdelaal, N., & Mosabab, A. et al. (2019). Interleukin-4 -590C/T gene polymorphism in Egyptian children with acute lower respiratory infection: A multi-center study. *Pediatric Pulmonology*, 54(3), 297-302. doi: 10.1002/ppul.24235
- [33] Epifanceva, N. V. (2011). *Rol polimorfizma genov IL-4 (S589T), IL-10 (C592A, G1082A, S819T) i FNOα (G308A) v patogeneze kokljushu u detej*. Dis ...kand. med. nauk [The role of IL-4 (C589T), IL-10 (C592A, G1082A, C819T) and TNFα (G308A) gene polymorphism in the pathogenesis of pertussis in children. Dr. med. sci. diss.]. Chita. [in Russian].
- [34] Bataeva, E. P. (2014). Vlijanie polimorfizmov genov IL-4 (S589T) i TNFα (G308A) na sodержanie citokinov u detej pri pielonefritah [Influence polymorphism of genes IL-4 (C589T) and TNFα (G308A) on content of cytokine in children with pyelonephritis]. *Far East Medical Journal*, 1, 74-78. [in Russian].
- [35] Usyčenko, E. N., Usyčenko, E. M., & Bazhora, Ju. I. (2017). Sostojanie immunnogo statusa i polimorfizm genov citokinov IL-10, IL-4, TNF u pacientov s hroničeskim gepatitom S v zavisimosti ot stepeni fibroza [Immune status and gene polymorphism of cytokines IL-10, IL-4, TNF in patients with chronic hepatitis C depending on the degree of fibrosis]. *Vestnik Of Vitebsk State Medical University*, 16(1), 50-58. doi: 10.22263/2312-4156.2017.1.50 [in Russian].
- [36] Shumilov, D. S., Tuguz, A. R., Smolkov, I. V., Tatarokva, E. A., Muzhenja, D. V., & Ashkanova, T. M. et al. (2017). Polimorfizmy genov osnovnyh pro- i protivovospalitelnyh citokinov: IL-1β (T511C,

RS16944), TNF- $\alpha$  (G308A, RS1800629), IL-4 (C589T, RS2243250) pri koronarnom ateroskleroze [Gene polymorphisms of the main pro- and anti-inflammatory cytokines: IL-1 $\beta$  (T511C, RS16944), TNF- $\alpha$  (G308A, RS1800629), IL-4 (C589T, RS2243250) in coronary atherosclerosis]. *The Bulletin of the Adyghe State University: Internet Scientific Journal*, 1(196), 41-46. [in Russian].

- [37] Puzyreva, L. V., & Safonov, A. D. (2016). Geneticheskij polimorfizm citokinov: proshloe i budushhee [Cytokines genetic polymorphism: the past and the future]. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 6(2), 103-108. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-103-108 [in Russian].
- [38] Anohina, E. N., Tuguz, A. R., Rudenko, K. A., & Muzhenja, D. V. (2014). Associacija polimorfizmov genov IL-4, IL-2 so zlokachestvennymi novoobrazovanijami zhenskih reproduktivnyh organov [Association of IL-4 and IL-2 gene polymorphisms with the malignant growths of female reproductive organs]. *The Bulletin of the Adyghe State University: Internet Scientific Journal*, 1(133), 51-55. [in Russian].

## Lung ventilation impairment in asthma patients with obesity

Yu. I. Feshchenko\*<sup>1,A,F</sup>, G. L. Gumeniuk<sup>1,2,A,D</sup>, M. I. Gumeniuk<sup>1,C,D,E</sup>, S. V. Zaikov<sup>2,E</sup>,  
O. M. Rekalova<sup>1,A,E</sup>, S. H. Opimakh<sup>1,B-D</sup>

<sup>1</sup>SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. H. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv, <sup>2</sup>National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk, Kyiv, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

BA is characterized by more severe course, worse response to standard therapy in obese patients, therefore asthma with obesity is considered not just as comorbidity but as a distinct BA phenotype.

**Aim.** To study the lung ventilation impairment in asthma patients with obesity using capnometry. The tasks are to study parameters of lung ventilation in asthma patients and healthy persons and to compare these parameters in asthma patients depending on the presence of obesity.

**Materials and methods.** The study involved 60 participants (29 men and 31 women) aged 24 to 74 years, the mean age was  $52.3 \pm 2.7$  years, including 30 patients with asthma and 30 healthy subjects. For all participants, body plethysmography and capnometry were performed.

**Results.** The respiratory minute volume and alveolar ventilation volume were higher in asthma patients with obesity, and the volume of dead space ventilation and its fraction in the tidal volume were not substantially different among the groups of patients with BA. Specifically in relation to the gas exchange parameters, it was found that in obese asthmatics, the end-tidal carbon dioxide pressure was significantly increased –  $4.8 \pm 0.1$  kPa compared with non-obese patients  $4.3 \pm 0.1$  kPa,  $P < 0.05$ . The end-tidal oxygen concentration was significantly decreased –  $15.3 \pm 0.2$  % compared to normal weight patients  $16.0 \pm 0.2$  %,  $P < 0.05$ .

**Conclusions.** Asthma patients with obesity have characteristics that include reduced total lung capacity, inspiratory capacity and forced vital capacity with a higher degree of airways obstruction. These changes lead to lung ventilation impairment with a tendency to carbon dioxide retention, which may be an unfavorable factor for the process of gas exchange with increased oxygen demands for the entire organism in obesity.

### Key words:

asthma, obesity, capnometry.

Zaporozhye  
medical journal  
2019; 21 (6), 733–738

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186486

\*E-mail:  
admin@ifp.kiev.ua

## Порушення легеневої вентиляції у хворих на бронхіальну астму з ожирінням

Ю. І. Фещенко, Г. Л. Гуменюк, М. І. Гуменюк, С. В. Зайков, О. М. Рекалова, С. Г. Опімах

Для бронхіальної астми (БА), що розвивається на тлі ожиріння, притаманні тяжчий перебіг, зниження відповіді на стандартну терапію. Таке поєднання розглядають як окремий фенотип захворювання.

**Мета роботи** – вивчити порушення легеневої вентиляції у хворих на астму з ожирінням за допомогою методики капнометрії. Завдання дослідження полягали у вивченні параметрів легеневої вентиляції у хворих на астму та здорових осіб і порівнянні параметрів легеневої вентиляції у хворих на астму залежно від наявності ожиріння.

**Матеріали та методи.** У дослідженні взяли участь 60 осіб (29 чоловіків і 31 жінка) віком від 24 до 74 років, серед них – 30 хворих на БА і 30 здорових осіб, яким виконали бодіплетизмографію та капнометрію.

**Результати.** У хворих на астму з ожирінням визначають більші об'єм хвилиної вентиляції та об'єм альвеолярної вентиляції порівняно з хворими на БА без ожиріння. При ожирінні вірогідно збільшується парціальний тиск вуглекислого газу в кінці видиху ( $4,8 \pm 0,1$  кПа) порівняно з пацієнтами без ожиріння ( $4,3 \pm 0,1$  кПа),  $p < 0,05$ . Встановили вірогідне зменшення фракційної концентрації кисню в кінці видиху до  $15,3 \pm 0,2$  % при ожирінні порівняно з  $16,0 \pm 0,2$  % у хворих на астму з нормальною масою тіла,  $p < 0,05$ .

**Висновки.** Для хворих на бронхіальну астму з ожирінням притаманні зниження загальної ємності легень, ємності вдиху та життєвої ємності легень, а також значно виражений ступінь обструкції дихальних шляхів. Ці зміни призводять до порушення легеневої вентиляції з тенденцією до затримки вуглекислоти в організмі, що служить несприятливим тлом функціонування газообміну в умовах підвищеної загальної потреби організму в кисні при ожирінні.

### Ключові слова:

бронхіальна  
астма, ожиріння,  
капнометрія.

Запорізький  
медичний  
журнал. – 2019. –  
Т. 21, № 6(117). –  
С. 733–738

## Нарушения легочной вентиляции у больных бронхиальной астмой с ожирением

Ю. И. Фещенко, Г. Л. Гуменюк, Н. И. Гуменюк, С. В. Зайков, Е. М. Рекалова, С. Г. Опимах

Бронхиальная астма (БА) у больных с ожирением характеризуется более тяжелым течением, сниженным ответом на стандартную терапию и рассматривается как отдельный фенотип заболевания.

**Цель работы** – изучить нарушения вентиляции легких у больных астмой с ожирением с использованием методики капнометрии. Задачи исследования – изучить параметры вентиляции легких у пациентов с астмой и здоровых людей и сравнить параметры вентиляции легких у пациентов с астмой в зависимости от наличия ожирения.

### Ключевые слова:

бронхиальная  
астма, ожирение,  
капнометрия.

Запорожский  
медицинский  
журнал. – 2019. –  
Т. 21, № 6(117). –  
С. 733–738

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 60 участников (29 мужчин и 31 женщина) в возрасте от 24 до 74 лет, среди них 30 больных БА и 30 здоровых лиц, которым проведено бодиплетизмографию и капнометрию.

**Результаты.** У больных астмой с ожирением установлены более высокие минутный объем дыхания и объем альвеолярной вентиляции по сравнению с больными БА без ожирения. При ожирении достоверно увеличивается парциальное давление углекислого газа в конце выдоха ( $4,8 \pm 0,1$  кПа) по сравнению с пациентами без ожирения ( $4,3 \pm 0,1$  кПа),  $p < 0,05$ . Отмечено достоверное уменьшение фракционной концентрации кислорода в конце выдоха до  $15,3 \pm 0,2$  % при ожирении по сравнению с  $16,0 \pm 0,2$  % у больных астмой с нормальной массой тела,  $p < 0,05$ .

**Выводы.** Для больных БА с ожирением характерно снижение общей емкости легких, емкости вдоха и жизненной емкости легких, а также более выраженная степень обструкции дыхательных путей. Данные изменения приводят к нарушению легочной вентиляции с тенденцией к задержке углекислоты в организме, что служит неблагоприятным фоном функционирования газообмена при повышенной общей потребности организма в кислороде при ожирении.

The prevalence of both obesity and bronchial asthma (BA) is increasing now as well as their comorbidity [1]. The problem of asthma and obesity has been studied since 1999, when it was found that overweight people have a higher risk of asthma development. After 10 years, the results of more than 50 studies worldwide have shown a higher incidence of asthma in obese individuals. Later, a causal relationship between weight gain and asthma development was proved [2].

In GINA (Global Initiative for Asthma) guidelines, obesity is included in the list of the risk factors and clinical manifestations of asthma. Weight reduction in obese and overweight patients with asthma is recommended in order to improve lung function, symptoms and health status. BA is characterized by more severe course, worse response to standard therapy in obese patients, therefore asthma with obesity is considered not just as a comorbidity but as a distinct BA phenotype [3].

Obesity is a state of the systemic inflammatory response, and fatty tissue is an active source of proinflammatory mediators (adipokines) secretion such as C-reactive protein, tumor necrosis factor  $\alpha$ , interleukin-6, -4, -5 and -13, plasminogen activator inhibitor, eotaxin, vascular endothelial growth factor, monocyte chemoattractant protein-1. Obesity is accompanied by oxidative stress, as evidenced by the increase in isoprostane-8 and other markers in both plasma and bronchiolar alveolar lavage fluid with increasing body mass index [4,5].

Obesity has a significant pathophysiological impact on the respiratory system function including ventilation, respiratory mechanics, respiratory muscle strength and endurance, gas exchange, control of respiration, decreasing exercise capacity and resulting in respiratory failure [6].

Repeated episodes of airway obstruction in asthma also lead to gas exchange disturbances especially due to ventilation-perfusion mismatch. The presence of significant gas exchange abnormalities along with almost normal clinical and spirometric parameters in patients is the peculiarity of asthma [7].

We study the possibilities of capnometry in evaluating pulmonary ventilation in patients with asthma. Capnometry is a measurement and a digital representation of the concentration or partial pressure of carbon dioxide in the air that inhales or exhales the patient during the respiratory cycle. Due to the integration of capnometers and pneumotachometers in one device and the unique capnometry capability to calculate  $\text{CO}_2$ -free air during exhalation as a dead space volume and its fraction in the tidal volume, it is possible to evaluate the effectiveness of alveolar ventilation [7].

### Aim

To study the lung ventilation impairment in asthma patients with obesity using capnometry. The tasks of the work are:

- to study parameters of lung ventilation in asthma patients and healthy persons;
- to compare the lung ventilation parameters in asthma patients depending on the presence of obesity.

### Materials and methods

The study involved 60 participants (29 men and 31 women) aged 24 to 74 years, the mean age was  $52.3 \pm 2.7$  years including 30 patients with asthma and 30 healthy subjects.

The inclusion criteria for asthma patients – women and men from 18 years old, bronchial reversibility – percentage change in baseline forced expiratory volume in the first second (FEV<sub>1</sub>) of  $>12$  % (or  $\geq 200$  ml) after administering short-acting  $\beta_2$ -agonists. Only asthma patients who had no signs of disease exacerbation at the time of the examination participated in the study. The inclusion criteria for healthy individuals – women and men from 18 years old with normal respiratory function without bronchial obstructive pathology at the time of the examination. In addition, for all participants – study protocol awareness and signed informed consent to participate in the study, the ability to understand and perform maneuvers of the diagnostic procedures.

The exclusion criteria were having other than asthma respiratory diseases, severe uncontrolled progressive chronic diseases that can affect the examination results, mental disorders.

The diagnosis of asthma was determined by the Order of Ministry of Health of Ukraine No 868 from 08.10.2013 “About the approval and implementation of medical-technological documents on the standardization of medical care for bronchial asthma” [8].

Body mass index (BMI) was calculated as body weight in kilograms divided by height in meters squared. Obesity was defined in subjects with BMI  $30.0 \text{ kg/m}^2$  or higher.

The BA group consisted of 30 patients (11 men and 19 women) with the mean age of  $57.3 \pm 2.3$  years and the mean FEV<sub>1</sub>  $72.3 \pm 1.8$  % with both normal weight and obesity.

The group of healthy individuals consisted of 30 subjects (18 men and 12 women) with the mean age of  $48.7 \pm 3.7$  years and the mean FEV<sub>1</sub>  $100.2 \pm 1.5$  % with normal weight.

Pulmonary function tests and capnometry were performed for all subjects.

Pulmonary function tests (body plethysmography and spirometry) were performed on the "Master Screen PFT" apparatus of the "Cardinal Health" company (Germany) according to the manufacturer's methodology. The following parameters were studied:

- total resistance (R<sub>tot</sub>),
- total lung capacity (TLC),
- residual volume (RV),
- RV/TLC ratio,
- intrathoracic gas volume (ITGV),
- inspiratory capacity (IC),
- forced expiratory volume in the first second (FEV<sub>1</sub>),
- forced vital capacity (FVC),
- FEV<sub>1</sub>/FVC ratio,
- maximal expiratory flow at 75 %, 50 % and 25 % of remaining FVC (MEF<sub>75%</sub>, MEF<sub>50%</sub>, MEF<sub>25%</sub>).

Capnometry was performed on a set for cardiorespiratory system examination "Oxycon Pro", "Cardinal Health" (Germany), the following parameters were studied:

- volume of dead space (the volume of gases in non-perfused alveoli), ml (V<sub>D</sub>, ml),
- dead space to the tidal volume ratio (V<sub>D</sub>%V<sub>T</sub>),
- minute ventilation (V<sub>E</sub>, l/min),
- alveolar ventilation (V<sub>A</sub>, l/min),
- end-tidal CO<sub>2</sub> pressure, (PETCO<sub>2</sub>, kPa),
- end-tidal O<sub>2</sub> fraction (FETO<sub>2</sub>, %).

The data collection and mathematical processing was carried out by licensed software products included in the Microsoft Office Professional 2007 package, Russian Academic OPEN 1 License No Level 43437596. Statistical analysis was performed using MS Excel with descriptive statistics (mean (M), the mean error (m)) and nonparametric statistics (Mann–Whitney test for two independent samples) and the level of significance (P) was determined. Statisti-

cally significant differences were estimated at p-values of less than 0.05.

The study was agreed with the Ethics Committee of the NIPhP NAMS, all participants were acquainted with the study protocol and gave their written informed consent.

## Results

Data on age, body weight and BMI of study participants are shown in *Table 1*.

Anthropometric data, except for BMI, of the asthma patients did not differ from healthy subjects as healthy subjects were not obese. Accordingly, there were statistically significant differences only in body weight and BMI between asthma groups due to having obesity. 11 patients from 30 asthmatics were obese.

Based on the pulmonary function test results it was found that unlike healthy individuals, in asthma patients, all the parameters of body plethysmography and spirometry were abnormal, except for the TLC and IC, with the statistically significant difference (*Table 2*).

In determining the effect of obesity on the pulmonary function test in patients with asthma, we obtained evidence showing that lung volumes were reduced in patients with obesity. In particular, TLC, IC and FVC were reduced. At the same time, the severity of bronchial obstruction was more pronounced in obese patients compared with those without obesity.

Capnometry was performed for all 60 participants in the study. To solve the first task of our work, we analyzed the capnometry results in patients with asthma and healthy individuals. It was found that the overall pulmonary ventilation parameters in patients with asthma were slightly

**Table 1.** Anthropometric data of the subjects (M ± m)

Indicators, units	Asthma patients, (n = 30)	Asthma patients with obesity, (n = 11)	Asthma patients without obesity, (n = 19)	Healthy subjects, (n = 30)
Age, years	57.3 ± 2.3	60.3 ± 2.6	55.5 ± 3.4	48.7 ± 3.7
Body weight, kg	79.6 ± 3.5	99.0 ± 4.2	68.3 ± 2.5 <sup>#</sup>	78.5 ± 2.7
BMI, kg/m <sup>2</sup>	28.7 ± 1.1	34.5 ± 1.4	25.4 ± 0.7 <sup>#</sup>	24.2 ± 0.7 <sup>*</sup>

\*: statistically significant difference between asthma patients and healthy subjects, P < 0.05; #: statistically significant difference between asthma patients with and without obesity, P < 0.05.

**Table 2.** Pulmonary function test results (M ± m)

Indicators, units	Asthma patients, (n = 30)	Asthma patients with obesity, (n = 11)	Asthma patients without obesity, (n = 19)	Healthy subjects, (n = 30)
R <sub>tot</sub> , %	181.1 ± 13.4	180.38 ± 27.4	181.5 ± 15.6	91.2 ± 5.2 <sup>*</sup>
TLC, %	103.4 ± 2.8	96.3 ± 3.9	107.7 ± 3.7 <sup>#</sup>	101.7 ± 2.8
RV, %	128.7 ± 6.4	121.9 ± 13.4	132.8 ± 6.8	103.0 ± 5.1 <sup>*</sup>
RV/TLC, %	44.7 ± 1.4	44.8 ± 3.2	44.6 ± 1.3	32.5 ± 1.7 <sup>*</sup>
ITGV, %	106.7 ± 4.1	99.1 ± 8.1	111.3 ± 4.5	93.2 ± 4.4 <sup>*</sup>
IC, %	107.8 ± 4.2	101.1 ± 3.3	111.6 ± 3.8 <sup>#</sup>	113.4 ± 3.5
FEV <sub>1</sub> , %	72.3 ± 1.8	67.8 ± 2.1	74.9 ± 2.4 <sup>#</sup>	100.2 ± 1.5 <sup>*</sup>
FVC, %	93.9 ± 2.1	87.1 ± 2.3	97.9 ± 2.7 <sup>#</sup>	102.4 ± 1.9 <sup>*</sup>
FEV <sub>1</sub> /FVC, %	64.4 ± 1.6	65.1 ± 2.4	64.0 ± 2.2	81.6 ± 1.2 <sup>*</sup>
MEF <sub>75%</sub> , %	52.3 ± 3.5	52.1 ± 7.1	52.4 ± 4.1	92.0 ± 3.2 <sup>*</sup>
MEF <sub>50%</sub> , %	31.8 ± 2.1	30.3 ± 3.3	32.7 ± 2.8	88.7 ± 3.6 <sup>*</sup>
MEF <sub>25%</sub> , %	22.5 ± 1.9	23.9 ± 3.3	21.6 ± 2.3	68.4 ± 5.9 <sup>*</sup>

\*: statistically significant difference between asthma patients and healthy subjects, P < 0.01; #: statistically significant difference between asthma patients with and without obesity, P < 0.05.

**Table 3.** Capnometry results (M ± m)

Indicators, units	Asthma patients, (n = 30)	Asthma patients with obesity, (n = 11)	Asthma patients without obesity, (n = 19)	Healthy subjects, (n = 30)
V <sub>E</sub> , L/min	10.7 ± 0.4	11.5 ± 0.8	10.3 ± 0.4	10.6 ± 0.3
VD, ml	189 ± 8	210.9 ± 15.0	199.1 ± 11.9	181 ± 8
VD%VT	27.4 ± 1.3	27.4 ± 1.8	29.3 ± 1.6	27.1 ± 1.2
VA, L/min	7.8 ± 0.6	8.2 ± 0.5	7.4 ± 0.4	7.9 ± 0.2
PETCO <sub>2</sub> , kPa	4.5 ± 0.1*	4.8 ± 0.1	4.3 ± 0.1#	4.6 ± 0.1
FETO <sub>2</sub> , %	15.7 ± 0.1	15.3 ± 0.2	16.0 ± 0.2#	15.5 ± 0.1

\*: statistically significant difference between asthma patients and healthy subjects, P < 0.01; #: statistically significant difference between asthma patients with and without obesity, P < 0.05.

different from those in healthy individuals. Thus, the average value of V<sub>E</sub> was 10.6 ± 0.3 l/min in healthy individuals and 10.7 ± 0.4 l/min in asthma patients (Table 3). As for the VD, it was, on average, higher in patients with asthma – 189 ± 8 ml compared with healthy individuals – 181 ± 8 ml, but without statistically significant difference between groups. VD%VT was also higher in asthma patients 27.4 ± 1.3 % than in healthy persons 27.1 ± 1.2 %, but without statistical significance.

In resolving the second task of our work, it was found that the indicators of V<sub>E</sub> and VA were higher in patients with obesity, while VD and VD%VT were not substantially different among the groups of patients with BA (table 3). Specifically in relation to the gas exchange parameters, it was found that in obese asthmatics, the indicators of PETCO<sub>2</sub> were significantly increased – 4.8 ± 0.1 kPa compared with non-obese patients 4.3 ± 0.1 kPa, p < 0.05, but the indicators of FETO<sub>2</sub> were significantly decreased – 15.3 ± 0.2 % compared to normal weight patients 16.0 ± 0.2 %, P < 0.05.

## Discussion

The obtained results of the pulmonary function tests correspond to the generally accepted data that in obesity, the TLC decreases due to an increased pressure in the abdominal cavity impeding the normal diaphragm excursion. Another TLC reduction mechanism is an excessive fat deposition in the thoracic cavity, which reduces the space for complete lung expansion during inhalation. The same mechanism is suggested for the decrease in IC [9]. In our study, a more pronounced bronchial obstruction was in obese asthmatics with FEV<sub>1</sub> 67.8 ± 2.1 % compared to those without obesity 74.9 ± 2.4 %, P < 0.05 that can be explained by a higher degree of bronchial hyperreactivity in BA-obesity phenotype [10]. The literature indicates that even obese non-asthmatics may have a significant airway obstruction due to small airway collapse when lung volume is reduced [11].

A similar mechanism underlies a higher PETCO<sub>2</sub> in obesity. An accumulation of carbon dioxide in the alveolar space is associated with inadequate ventilation through mechanisms of lung volumes reduction, inhibition of neural respiratory drive, respiratory muscle weakness and ventilation-perfusion mismatch [12]. Given the fact that carbon dioxide easily dissolves in blood and penetrates biological membranes, the value of PETCO<sub>2</sub> in the ideal pulmonary diffusing capacity should correspond to the partial pressure of carbon dioxide in arterial blood

[13]. Although the level of PETCO<sub>2</sub> in the examined patients 4.8 ± 0.1 kPa did not exceed the normal values for this indicator (4.0–5.7 kPa) [14], but it was significantly higher than that in patients without obesity – 4.3 ± 0.1 kPa, P < 0.05, indicating the compromised processes of pulmonary ventilation with a tendency to accumulate carbon dioxide in these patients.

Regarding the FETO<sub>2</sub>, it can be calculated from inspired atmospheric oxygen concentration of 20.85 % and expired oxygen concentration of 16.0 % by a non-obese asthma patient, so oxygen absorbance from the atmosphere is 4.85 %. Similarly, we assume that if expired oxygen concentration is 15.3 % in obese asthmatics, that is oxygen absorbance is 5.55 %, which is 14 % higher compared to patients without obesity.

According to the literature data, body weight gain causes an increased total oxygen demand. The research results show that oxygen consumption in obese patients at rest is 25 % higher than in patients with normal body weight. Metabolism in overweight individuals requires higher lung ventilation both for oxygen supply to tissues and carbon dioxide elimination [11]. In our study, oxygen consumption in obese patients was not as high as in the sources mentioned. We explain this difference by the fact that in our case, asthma patients with bronchial obstruction were studied rather than obese non-asthmatics.

Despite the lack of pharmacological strategies for a specific treatment of obese asthmatics, weight loss strategies have been thoroughly investigated and shown to be effective in improving respiratory health in these patients [15]. Thus, obesity is a current problem of clinical practice which significantly disrupts overall health of patients and complicates the course of BA, in particular [16].

## Conclusions

1. Asthma patients with obesity have characteristics that include reduced total lung capacity, inspiratory capacity and forced vital capacity with a higher degree of airways obstruction.

2. These changes lead to lung ventilation impairment with a tendency to carbon dioxide retention, which may be an unfavorable factor for the process of gas exchange with increased oxygen demands for the entire organism in obesity.

**Prospects for further research.** Capnometry diagnostics criteria development for non-invasive hypercapnia detection in obese asthma patients for initial assessment prior to therapy and control evaluation of treatment efficacy.

**Funding**

The study was conducted in SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. H. Yanovsky NAMS of Ukraine" (NIPhP NAMS) as the part of the scientific research work "To develop effective medical treatment for patients with obstructive pulmonary disease" (state registration number 0113U000264).

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 14.08.2019  
Після доопрацювання / Revised: 05.09.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 16.09.2019

**Information about authors:**

Feshchenko Yu. I., MD, PhD, DSc, Professor, Academician of NAMS of Ukraine, Director of SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. H. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv. ORCID ID: 0000-0002-8650-0289

Gumeniuk G. L., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk; Senior Researcher of the Department of Diagnosis, Therapy and Clinical Pharmacology of Lung Diseases, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. H. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv. ORCID ID: 0000-0001-8160-7856

Gumeniuk M. I., MD, PhD, DSc, Leading Researcher of the Department of Technologies in Treatment of Nonspecific Lung Diseases, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. H. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv. ORCID ID: 0000-0002-4365-6224

Zaikov S. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk, Kyiv. ORCID ID: 0000-0002-9276-0490

Rekalova O. M., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Clinical Immunology, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. H. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv. ORCID ID: 0000-0001-5803-2986

Opimakh S. H., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Diagnosis, Therapy and Clinical Pharmacology of Lung Diseases, SI "National Institute of Phthysiology and Pulmonology named after F. H. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv. ORCID ID: 0000-0002-4631-2048

**Відомості про авторів:**

Фещенко Ю. І., академік НАМН України, д-р мед. наук, професор, директор ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Гуменюк Г. Л., д-р мед. наук, професор каф. фізіатрії і пульмонології, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика; старший науковий співробітник відділення діагностики, терапії та клінічної фармакології захворювань легень, ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Гуменюк М. І., д-р мед. наук, провідний науковий співробітник відділення технологій лікування неспецифічних захворювань легень, ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Зайков С. В., д-р мед. наук, професор каф. фізіатрії і пульмонології, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ.

Рекалова О. М., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, зав. лабораторії клінічної імунології, ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

Опімах С. Г., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділення діагностики, терапії та клінічної фармакології захворювань легень, ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського НАМН України», м. Київ.

**Сведения об авторах:**

Фещенко Ю. И., академик НАМН Украины, д-р мед. наук, профессор, Директор института, ГУ «Национальный институт физиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Гуменюк Г. Л., д-р мед. наук, профессор каф. физиатрии и пульмонологии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика; старший научный сотрудник отделения диагностики терапии и клинической фармакологии заболеваний легких, ГУ «Национальный институт физиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Гуменюк Н. И., д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник отделения технологий лечения неспецифических заболеваний легких, ГУ «Национальный институт физиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Зайков С. В., д-р мед. наук, профессор каф. физиатрии и пульмонологии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев.

Рекалова Е. М., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, зав. лаборатории клинической иммунологии ГУ «Национальный институт физиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

Опимах С. Г., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения диагностики терапии и клинической фармакологии заболеваний легких, ГУ «Национальный институт физиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского НАМН Украины», г. Киев.

**References**

- [1] Garcia-Rio, F., Alvarez-Puebla, M., Esteban-Gorgojo, I., Barranco, P., & Olaguibel, J. (2019). Obesity and Asthma: Key Clinical Questions. *Journal Of Investigational Allergology And Clinical Immunology*, 29(4), 262-271. doi: 10.18176/jiaci.0316
- [2] Feshchenko, Ju. I., Jashina, L. A., & Opimakh S. G. (2014). Osobennosti bronhialnoj astmy u bolnyh s metabolicheskim sindromom [Bronchial asthma features in patients with metabolic syndrome]. *Health of Ukraine*, 2, 6-8. Retrieved from <http://health-ua.com/article/25871-osobennosti-bronhialnoj-astmy-u-bolnyh-s-metabolicheskim-sindromom>. [in Russian].
- [3] GINA Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. (2018). Retrieved from [https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2018/04/wms-GINA-2018-report-tracked\\_v1.3.pdf](https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2018/04/wms-GINA-2018-report-tracked_v1.3.pdf).
- [4] Grace, J., Mohan, A., & Lugogo, N. (2019). Obesity and adult asthma. *Current Opinion In Pulmonary Medicine*, 25(1), 44-50. doi: 10.1097/mcp.0000000000000531
- [5] Peters, U., Dixon, A., & Forno, E. (2018). Obesity and asthma. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, 141(4), 1169-1179. doi: 10.1016/j.jaci.2018.02.004
- [6] Mohanan, S., Tapp, H., McWilliams, A., & Dulin, M. (2014). Obesity and asthma: Pathophysiology and implications for diagnosis and management in primary care. *Experimental Biology And Medicine*, 239(11), 1531-1540. doi: 10.1177/1535370214525302
- [7] Opimakh, S. H. (2014). Otsinka lehenevoi ventyliatsii u khvorykh na bronhialnu astmu z nekontrolovanyim perebihom [Lung ventilation evaluation in patients with uncontrolled asthma]. *Asthma and allergy*, 1, 13-17. [in Ukrainian].
- [8] (2013). *Pro zatverdzhennia ta vprovadzhennia medyko-tekhnohichnykh dokumentiv zi standartyzatsii medychnoi dopomohy pry bronhialnii astmi: nakaz MOZ Ukrainy vid 08.10.2013 roku №868*. [On approval and implementation of medical technology documents on standardization of medical care in bronchial asthma: order of the Ministry of Health of Ukraine from October 08, 2013 №868]. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0868282-13?lang=uk>. [in Ukrainian].
- [9] Melo, L., Silva, M., & Calles, A. (2014). Obesity and lung function: a systematic review. *Einstein (São Paulo)*, 12(1), 120-125. doi: 10.1590/s1679-45082014rw2691
- [10] Bates, J. (2016). Physiological Mechanisms of Airway Hyperresponsiveness in Obese Asthma. *American Journal Of Respiratory Cell And Molecular Biology*, 54(5), 618-623. doi: 10.1165/rcmb.2016-0019ps

- [11] Gomez-Llorente, M., Romero, R., Chueca, N., Martinez-Cafavate, A., & Gomez-Llorente, C. (2017). Obesity and Asthma: A Missing Link. *International Journal Of Molecular Sciences*, 18(7), 1490. doi: 10.3390/ijms18071490
- [12] Egea-Santaolalla, C., & Javaheri, S. (2016). Obesity Hypoventilation Syndrome. *Current Sleep Medicine Reports*, 2(1), 12-19. doi: 10.1007/s40675-016-0035-2
- [13] Preiss, D., Azami, T., & Urman, R. (2015). Variations in Respiratory Excretion of Carbon Dioxide Can Be Used to Calculate Pulmonary Blood Flow. *Journal Of Clinical Medicine Research*, 7(2), 83-90. doi: 10.14740/jocmr1979w
- [14] Herdy, A., Ritt, L., Stein, R., Araújo, C., Milani, M., & Meneghelo, R. et al. (2016). Cardiopulmonary Exercise Test: Background, Applicability and Interpretation. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 107(5), 467-481 doi: 10.5935/abc.20160171
- [15] Baffi, C., Winnica, D., & Holguin, F. (2015). Asthma and obesity: mechanisms and clinical implications. *Asthma Research And Practice*, 1(1). doi: 10.1186/s40733-015-0001-7
- [16] Tashiro, H., & Shore, S. (2019). Obesity and severe asthma. *Allergology International*, 68(2), 135-142. doi: 10.1016/j.alit.2018.10.004



## Імунологічні можливості діагностики та прогнозування розвитку асептичних та інфікованих місцевих ускладнень гострого панкреатиту

В. І. Десятерик\*<sup>1,E,F</sup>, Д. В. Мальцев<sup>2,A</sup>, М. С. Крикун<sup>1,B,C</sup>, В. В. Шаповалюк<sup>1,A,C</sup>,  
М. М. Шура<sup>1,D</sup>

<sup>1</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро, <sup>2</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – обґрунтувати можливість діагностики та прогнозування асептичних, інфікованих місцевих ускладнень гострого панкреатиту шляхом визначення рівня імуноглобулінів класу G.

**Матеріали та методи.** Обстежили 30 пацієнтів із гострим панкреатитом (набрякова та некротична форми). Групу контролю утворили пацієнти, госпіталізовані для здійснення планового оперативного втручання з приводу пахової кири, варикозної хвороби та фіброаденоми молочної залози (n = 10). Лабораторні та імунологічні дослідження виконували тричі: при надходженні, на 7 та 14 добу. Здійснили імуноферментний аналіз субкласів IgG (G1, G2, G3, G4) в основній групі дослідження.

**Результати.** Медіана виживаності, що характеризує момент часу, до якого доживає половина хворих без ускладнень, становить серед усіх обстежених 12 днів (95 % ДІ 2,0–28,0). При дефіциті імуноглобулінів цей час зменшується та становить при зниженні рівня загального IgG 10 днів (95 % ДІ 10,0–71,0). Зіставляючи групи зі зниженим рівнем імуноглобулінів порівняно з нормальними показниками, така тенденція простежується для усіх субкласів, а статистично значущу різницю між ними встановили за IgG4. Виявили вірогідне (p = 0,049) розходження кривих Каплана–Мейєра в бік зменшення виживання без ускладнень у пацієнтів із низьким рівнем IgG4 (медіана виживаності – 2,0 дні, 95 % ДІ 1,0–17,0) порівняно з його нормальним і високим рівнями (Me = 28,0; 95 % ДІ 10,0–71,0).

Виживаність без ускладнень обстежених хворих статистично значущо підвищується за умови збільшення загального рівня імуноглобулінів: BP = 0,91 (95 % ДІ 0,11–0,98). Імовірність отримати ускладнення під час та після госпіталізації для хворого на ГП менша при підвищенні найбільшою мірою рівня IgG4: BP = 0,02 (95 % ДІ 0,001–0,650). Отже, чим вищий рівень імуноглобулінів у хворих, тим менший ризик отримати ускладнення. Пацієнти з низьким рівнем IgG4 мають більше шансів розвитку ускладнень, ніж пацієнти з нормальним чи підвищеним рівнем IgG4. Тобто рівень субкласу IgG4 можна вважати діагностичним критерієм розвитку ускладнень і розглядати як один із предикторів їх виникнення.

**Висновки.** Визначення IgG у динаміці у хворих на ГП дає нові можливості для прогнозування розвитку місцевих ускладнень ГП. Рівень IgG4 може бути додатковим діагностичним критерієм розвитку місцевих ускладнень ГП.

### Ключові слова:

гострий панкреатит, діагностика, прогнозування, імуноглобуліни.

### Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 739–743

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186491

\*E-mail: Vid7181@gmail.com

## Иммунологические возможности диагностики и прогнозирования развития асептических и инфицированных местных осложнений острого панкреатита

В. И. Десятерик, Д. В. Мальцев, М. С. Крикун, В. В. Шаповалюк, М. Н. Шура

**Цель работы** – обосновать возможность диагностики и прогнозирования асептических и инфицированных местных осложнений острого панкреатита путем определения уровня иммуноглобулинов класса G.

**Материалы и методы.** Обследовали 30 пациентов с острым панкреатитом (отечная и некротическая формы). Группу контроля составили пациенты, госпитализированные для проведения планового оперативного вмешательства по поводу паховой грыжи, варикозной болезни и фиброаденомы молочной железы (n = 10). Лабораторные и иммунологические исследования проводили трижды: при поступлении, на 7 и на 14 сутки. Проведен иммуноферментный анализ субклассов IgG (G1, G2, G3, G4) в основной группе исследования.

**Результаты.** Медиана выживаемости без осложнений среди всех обследованных составляет 12 дней (95 % ДИ 2,0–28,0). При дефиците иммуноглобулинов это время уменьшается и составляет при снижении уровня общего IgG 10 дней (95 % ДИ 10,0–71,0). При сравнении групп с пониженным уровнем иммуноглобулинов по сравнению с нормальными показателями такая тенденция прослеживается для всех субклассов, а статистически значимое различие между ними установлено по IgG4. Отмечено достоверное (p = 0,049) расхождение кривых Каплана–Мейєра в сторону уменьшения выживаемости без осложнений у пациентов с низким уровнем IgG4 (медиана выживаемости – 2,0 дня, 95 % ДИ 1,0–17,0) по сравнению с его нормальным и высоким уровнем (Me = 28,0; 95 % ДИ 10,0–71,0).

Выживаемость без осложнений обследованных больных статистически значимо повышается при увеличении общего уровня иммуноглобулинов: ОР = 0,91 (95 % ДИ 0,11–0,98). Вероятность получить осложнения при и после госпитализации для больного ОП меньше при повышении в наибольшей степени уровня IgG4: ОР = 0,02 (95 % ДИ 0,001–0,650). Следовательно, чем выше уровень иммуноглобулинов у больных, тем меньше риск осложнений. Пациенты с низким уровнем IgG4 имеют больше шансов развития осложнений, чем пациенты с нормальным или повышенным уровнем IgG4. То есть уровень субкласса IgG4 можно считать диагностическим критерием развития осложнений и рассматривать как один из предикторов их возникновения.

### Ключевые слова:

острый панкреатит, диагностика, прогнозирование, иммуноглобулины.

### Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 739–743

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186491

**Выводы.** Определение IgG в динамике у больных ОП предоставляет новые возможности для прогнозирования развития местных осложнений ОП. Уровень IgG4 может служить дополнительным диагностическим критерием развития местных осложнений ОП.

### Key words:

acute pancreatitis, diagnosis, prognosis, immunoglobulins.

### Zaporozhye

medical journal  
2019; 21 (6), 739–743

## Immunological possibilities of diagnostics and prognosis of aseptic and infected local complications of acute pancreatitis development

V. I. Desiateryk, D. V. Maltsev, M. S. Krykun, V. V. Shapovalyuk, M. M. Shkura

**The aim.** To substantiate the possibility of diagnosis and prediction of aseptic and infected local complications of acute pancreatitis (AP) by determining the level of immunoglobulins of class G.

**Materials and methods.** 30 patients with AP (oedematous and necrotic form) were examined. The control group consisted of patients scheduled for inguinal hernia, varicose vein and breast fibroadenoma surgery (n = 10). Laboratory and immunological studies were carried out three times: the 1st study – upon admission; the 2nd – on the 7th day; the 3 – on the 14th day. An enzyme-linked immunoglobulin analysis of IgG subclasses (G1, G2, G3, G4) was performed in the main study group.

**Results.** Median survival time is 12 days (95 % CI 2.0–28.0) among all examined patients. This time decreases in immunoglobulins deficiency and is 10 days (95 % CI 10.0–71.0) in total IgG level decrease. When comparing groups with a lower level of immunoglobulins and normal, this trend is reflected in all subclasses, and a statistically significant difference between them is detected for IgG4. There is a significant difference (p = 0.049) in Kaplan-Mayer's curves in terms of reducing survival without complications in patients with low IgG4 level (median survival 2.0 days, 95 % CI 1.0–17.0) compared to normal and high its level (Me = 28.0; 95 % CI 10.0–7.0).

Survival without complications of the examined patients increases statistically significantly with an increase in the total level of immunoglobulins – RR = 0.91 (95 % CI 0.11–0.98). The probability of complication in and after hospitalization for a patient with GP is lower with the most increase in IgG4 – RR = 0.02 (95 % CI 0.001–0.650). Consequently, the higher level of immunoglobulins in patients, the less the risk of getting complications. Patients with low IgG4 level are more likely to develop complications than patients with normal or elevated IgG4 level. That is, the level of subclass IgG4 can be considered as a diagnostic criterion of complications development and one of their occurrence predictors.

**Conclusions.** Definition of IgG dynamics in patients with AP provides new opportunities for predicting the development of local complications of AP. The level of IgG4 may serve as an additional diagnostic criterion for the local AP complications development.

Гострий панкреатит (ГП) – важке імунозапальне захворювання, що може зумовити критичний стан пацієнта та стати причиною смерті. Основними стратегіями консервативного лікування гострого панкреатиту є антиферментна та протизапальна терапія. На ранніх стадіях імунний дисбаланс проявляється надлишковою прозапальною відповіддю, але деякі лікарі вважають за доцільне призначати імунomodulatory терапію при важкому ГП, але консенсус у цьому питанні не досягнутий [1].

Імуноглобулінотерапія в результаті виразного імунomodulatoryного та протизапального впливів може бути ефективною та безпечною лікувальною стратегією при гострому панкреатиті, однак необхідні додаткові раціонально сплановані клінічні дослідження в цьому напрямі. Оскільки серед пацієнтів із ГП є ті, хто відповідає і хто не відповідає на терапію імунoglobulinaми, актуальним є пошук біомаркерів, за допомогою яких можна було б з високою точністю спрогнозувати чутливість до імунотерапевтичного агента в кожному випадку. Тому доцільне здійснення відповідного клінічного та імунологічного дослідження з вивчення динаміки субкласового складу IgG у пацієнтів із гострим панкреатитом у різні фази патологічного процесу.

Розрізняють 4 субкласи IgG, які позначають арабськими цифрами в порядку зменшення їхнього вмісту в сироватці крові (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Субкласи різняться структурою константних ділянок, специфічністю до антигенів і функціональною активністю [2]. Якщо говорити про послідовність синтезу різних субкласів IgG під час гострої імунної відповіді, то, згідно з останньою моделлю (запропонована А. М. Collins, К. J. L. Jackson),

при надходженні антигена спочатку виробляються низькоафінні IgE та IgG3, що є складовими негайної імунної відповіді, потім – високоафінні IgG1 та IgG2, котрі забезпечують кліренс середовищ від антигена, однак функціонують у певній опозиції один до одного, і зрештою – IgG4, що нарощують специфічність відповіді й реалізують ефект блокування щодо прозапальної активності інших імунoglobulinів. IgG1 та IgG2 проявляють певний антагонізм один до одного, разом забезпечуючи цілісну імунну відповідь у період розпаду гострого інфекційного процесу. Якщо IgG1 опосередковують переважно прозапальну відповідь внаслідок активації опсонофагоцитозу та системи комплементу за класичним шляхом, то IgG2 здійснюють антизапальний, блокувальний ефект, оскільки, нейтралізуючи розпізнаний антиген, не залучають чинники природженого імунітету. З іншого боку, клінічне оцінювання механізму імунної відповіді може допомогти в розумінні та розробленні ефективної лікувальної тактики ГП [3,4], що базуватиметься на своєчасній діагностиці, прогнозуванні його ускладнень.

### Мета роботи

Обґрунтувати можливість діагностики, прогнозування асептичних та інфікованих місцевих ускладнень гострого панкреатиту шляхом визначення рівня імунoglobulinів класу G.

### Матеріали і методи дослідження

В умовах міського спеціалізованого відділення з лікування гострого панкреатиту «Міська клінічна лікарня № 8»

і «Міська клінічна лікарня № 2» м. Кривого Рогу, які є клінічними базами кафедри хірургії, травматології та ортопедії факультету післядипломної освіти ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», обстежили 30 пацієнтів із гострим панкреатитом (набрякова та некротична форми). Групу контролю утворили пацієнти, які госпіталізовані для здійснення планового оперативного втручання з приводу пахової кири, варикозної хвороби та фіброаденоми молочної залози ( $n = 10$ ).

Лабораторні та імунологічні дослідження виконували тричі: під час надходження, на 7, 14 добу.

Здійснили імуноферментний аналіз субкласів IgG (G1, G2, G3, G4) в основній групі дослідження. Вимірювання сироваткової концентрації субкласів IgG здійснювали за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (виробник реактивів – Thermo Fisher Scientific Inc., USA) в умовах лабораторії Інституту імунології та алергології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Аналіз на однорідність основної та контрольної груп показав, що під час поділу хворих на групи залежно від віку та статі значущих відмінностей не було ( $p > 0,05$ ). Це вказує на коректність їхнього зіставлення та можливість порівняння для виявлення розбіжностей за іншими параметрами.

Методом оцінювання виживаності без ускладнень вивчали закономірності появи несприятливих подій протягом часу (60 днів) в обстежених хворих. Несприятливими подіями вважали ускладнення лікування – післяопераційне нагноєння рани. Початковою точкою відліку обрали дату госпіталізації, кінцевою – дату виявлення в пацієнта ускладнення (нецензуровані дані) або дату останньої інформації про те, що він перебував під спостереженням – дату виписки (цензуровані дані). Часом очікування вважали період від початку дослідження до підсумкової події (ускладнення).

Аналіз виконали з побудовою кривих виживаності за процедурою Каплана–Мейера, що характеризують імовірність пережити певний момент часу після настання початкової події. Для характеристики середнього рівня появи несприятливої події використовували показник медіани виживаності, котрий характеризує момент часу, до якого доживає без ускладнень половина (50 %) спостережуваної сукупності. Для визначення вірогідності різниці показників виживаності застосовували лог-ранк тест (логарифмічно рангований тест; log-rank test) із поправкою Сйтса на безперервність [5,6].

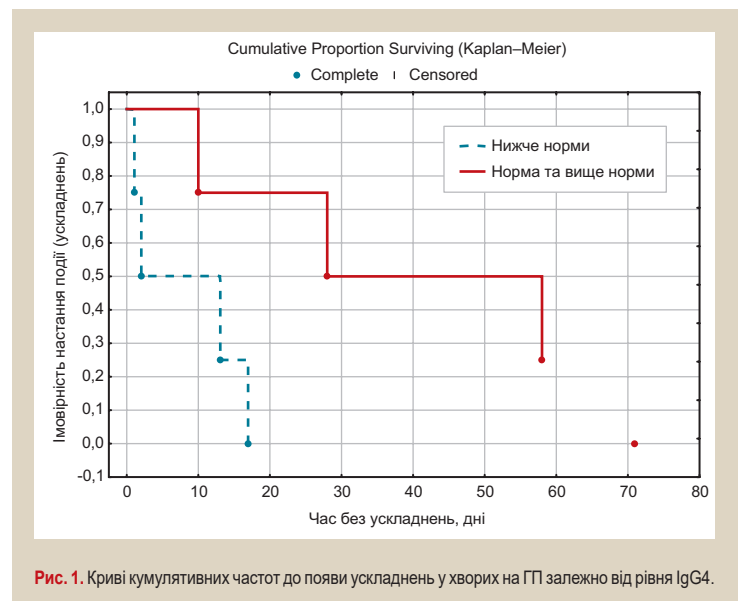
Для оцінювання значення імуноглобулінів як факторів розвитку ускладнень виконали регресійний аналіз пропорційних ризиків Кокса. Визначали відношення ризиків (BP, HR hazard ratio), що при значенні понад 1 свідчать про підвищений ризик, величини менше ніж 1 означають знижений ризик при підвищенні показника [5].

Критичне значення рівня статистичної значущості ( $p$ ) приймали  $< 5\%$  ( $p < 0,05$ ) для всіх видів аналізу [5,6].

Статистичне опрацювання виконали за допомогою програмного забезпечення Statistica 6.1 (StatSoftInc., серійний № AGAR909E415822FA). ROC-аналіз і побудову ROC-кривих здійснювали у програмному пакеті MedCalc Statistical Software trial version 17.4. (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>;

**Таблиця 1.** Медіани виживаності до появи ускладнень у хворих на гострий панкреатит залежно від рівня імуноглобулінів

Рівень імуноглобулінів	Ме, днів	95 % ДІ медіани	Лог-ранк тест (p)	
IgG1	Менше ніж норма	10,0	10,0–71,0	$\chi^2 = 0,92$ $p = 0,336$
	Норма та більше	13,0	2,0–28,0	
IgG2	Менше ніж норма	13,0	2,0–58,0	$\chi^2 = 0,05$ $p = 0,822$
	Норма та більше	28,0	2,0–58,0	
IgG3	Менше ніж норма	13,0	2,0–58,0	$\chi^2 = 0,05$ $p = 0,822$
	Норма та більше	28,0	2,0–58,0	
IgG4	Менше ніж норма	2,0	1,0–17,0	$\chi^2 = 3,81$ $p = 0,049$
	Норма та більше	28,0	10,0–71,0	
Загальний IgG	Менше ніж норма	10,0	10,0–71,0	$\chi^2 = 0,92$ $p = 0,336$
	Норма та більше	13,0	2,0–28,0	



**Рис. 1.** Криві кумулятивних частот до появи ускладнень у хворих на ГП залежно від рівня IgG4.

2017). Довірчі інтервали для відносних величин розраховували за методом Вілсона з поправкою на безперервність за допомогою он-лайн калькулятора, що запропонований порталом Wassar Stats: Web Site for Statistical Computation [7].

## Результати

Медіана виживаності, що характеризує момент часу, до якого доживає половина хворих без ускладнень, становить серед усіх обстежених 12 днів (95 % ДІ 2,0–28,0). При дефіциті імуноглобулінів цей час зменшується та становить при зниженні рівня загального IgG 10 днів (95 % ДІ 10,0–71,0) (табл. 1). Порівнюючи групи зі зниженим рівнем імуноглобулінів із групами з нормальними показниками, таку тенденцію визначили для усіх субкласів, а статистично значущу різницю між ними виявили для IgG4 (рис. 1). Не встановили вірогідні розбіжності між кривими виживаності до ускладнень в обстежених хворих за іншими субкласами.

Спостерігали вірогідне ( $p = 0,049$ ) розходження кривих Каплана–Мейера у бік зменшення часу без ускладнень у пацієнтів із низьким рівнем IgG4 (медіана виживаності – 2,0 дні, 95 % ДІ 1,0–17,0) порівняно з його нормальним і високим рівнем (Ме = 28,0; 95 % ДІ 10,0–71,0).

**Таблиця 2.** Ризик інфекційних ускладнень у хворих на ГП залежно від рівня IgG (за регресійною моделлю пропорційних ризиків Кокса)

Фактори	BP	95 % ДІ	p
IgG1	0,40	0,01–0,85	<0,001
IgG2	0,38	0,11–0,89	<0,001
IgG3	0,58	0,24–0,84	<0,001
IgG4	0,02	0,001–0,65	<0,001
Загальний IgG	0,91	0,11–0,98	<0,001

На підставі даних (табл. 2) можна стверджувати, що рівні імуноглобулінів є незалежними факторами прогнозу виживаності хворих на ГП без ускладнень (для всіх субкласів рівень значущості  $p < 0,01$ ).

### Обговорення

Відношення ризиків (або рівні ризиків) – це підсумкове значення підвищеного ризику на кожну одиницю або рівень зростання предикторної змінної – імуноглобуліну. Виживаність без ускладнень обстежених хворих статистично значучо підвищується під час збільшення загального рівня імуноглобулінів: BP = 0,91 (95 % ДІ 0,11–0,98).

Імовірність отримати ускладнення при та після госпіталізації для хворого на ГП менша при підвищенні рівня IgG1 – BP = 0,40 (95 % ДІ 0,01–0,85); рівня IgG2 – BP=0,38 (95 % ДІ 0,11–0,89); рівня IgG3 – BP=0,58 (95 % ДІ 0,24–0,84); найбільше – рівня IgG4 – BP = 0,02 (95 % ДІ 0,001–0,65). Отже, чим вищий рівень імуноглобулінів у хворих, тим менше ризик отримати ускладнення.

Пацієнти з низьким рівнем IgG4 мають більше шансів розвитку ускладнень, ніж пацієнти з нормальним чи підвищеним рівнем IgG4. Також у пацієнтів із низьким рівнем IgG4 медіана виживаності без ускладнень становить 2 доби, а в пацієнтів із нормальним рівнем чи вище ніж нормальний рівень IgG4 медіана виживаності без ускладнень становить 28 днів ( $p = 0,049$ ). Отже, рівень субкласу IgG4 можна вважати діагностичним критерієм розвитку ускладнень і розглядати як один із предикторів їх виникнення.

### Висновки

1. Визначення IgG у динаміці у хворих на ГП дає нові можливості для прогнозування розвитку місцевих ускладнень ГП.

2. Рівень IgG4 може бути додатковим діагностичним критерієм розвитку місцевих ускладнень ГП.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 25.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 02.07.2019

Прийнято до друку / Accepted: 01.08.2019

### Відомості про авторів:

Десятерик В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. хірургії, травматології та ортопедії ФПО, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Кривий Ріг.  
ORCID ID: 0000-0001-7097-8141

Мальцев Д. В., канд. мед. наук, директор лабораторії імунології та молекулярної біології, НДІ експериментальної та клінічної медицини, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
ORCID ID: 0000-0002-6615-3072

Крикун М. С., канд. мед. наук, асистент каф. хірургії, травматології та ортопедії ФПО, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Кривий Ріг.  
ORCID ID: 0000-0003-4975-0120

Шаповалюк В. В., канд. мед. наук, доцент каф. хірургії, травматології та ортопедії ФПО, «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Кривий Ріг.  
ORCID ID: 0000-0002-0650-2146

Шкура М. М., канд. мед. наук, асистент каф. хірургії № 2, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.  
ORCID ID: 0000-0001-8259-759X

### Сведения об авторах:

Десятерик В. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. хирургии, травматологии и ортопедии ФПО, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Кривой Рог, Украина.  
Мальцев Д. В., канд. мед. наук, директор лаборатории иммунологии и молекулярной биологии, НИИ экспериментальной и клинической медицины, Национальный медицинский университет имени О. О. Богомольца, г. Киев, Украина.  
Крикун М. С., канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии, травматологии и ортопедии ФПО, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Кривой Рог.  
Шаповалюк В. В., канд. мед. наук, доцент каф. хирургии, травматологии и ортопедии ФПО, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Кривой Рог.  
Шкура М. М., канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии № 2, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

### Information about authors:

Desiaterik V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Surgery, Traumatology and Orthopedics of FPE, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Kryvyi Rih.  
Maltsev D. V., MD, PhD, Director of Immunology and Molecular Biology Laboratory of Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.  
Krykun M. S., MD, Assistant of the Department of Surgery, Traumatology and Orthopedics of FPE, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Kryvyi Rih.  
Shapovalyuk V. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Surgery, Traumatology and Orthopedics of FPE, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Kryvyi Rih.  
Shkura M. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Surgery No 2, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

### Список літератури

- [1] Habtezion A., Algul H. Immune modulation in acute and chronic pancreatitis *Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base*. 2016. doi: 10.3998/panc.2016.30
- [2] Pezzilli R., Pagano N. Pathophysiology of autoimmune pancreatitis. *World Journal Of Gastrointestinal Pathophysiology*. 2014. Vol. 5. Issue 1. P. 11-17. doi: 10.4291/wjgp.v5.i1.11
- [3] Immunomodulatory therapies for acute pancreatitis / Li J., Yang W. J., Huang L. M., Tang C. W. *World Journal Of Gastroenterology*. 2014. Vol. 20. Issue 45. P. 16935-16947. doi: 10.3748/wjg.v20.i45.16935
- [4] Андрищенко В. П., Гіряк О. Т., Андрищенко Д. В. Гострий ускладнений панкреатит: принципи хірургічної тактики з використанням мініінвазивних технологій і стандартних операцій. *Клінічна хірургія*. 2018. Т. 85. № 6. С. 10-12. doi: 10.26779/2522-1396.2018.06.10
- [5] Ланг Т. А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов. М.: Практическая медицина. 2011. 480 с.
- [6] Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002. 312 с.

- [7] Julious S. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods by Robert G. Newcombe. *Statistics in Medicine*. 1998. Vol. 17. P. 857-872. *Statistics In Medicine*, Vol. 24. Issue 21. P. 3383-3384. doi: 10.1002/sim.2164

## References

- [1] Habtezion, A., & Algul, H. (2016). Immune modulation in acute and chronic pancreatitis *Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base*. doi: 10.3998/panc.2016.30
- [2] Pezzilli, R., & Pagano, N. (2014). Pathophysiology of autoimmune pancreatitis. *World Journal Of Gastrointestinal Pathophysiology*, 5(1), 11-17. doi: 10.4291/wjgp.v5.i1.11
- [3] Li, J., Yang, W. J., Huang, L. M., & Tang, C. W. (2014). Immunomodulatory therapies for acute pancreatitis. *World Journal Of Gastroenterology*, 20(45), 16935-16947. doi: 10.3748/wjg.v20.i45.16935
- [4] Andriushchenko, V. P., Hirniak, O. T., & Andriushchenko, D. V. (2018). Hostryi uskladnenyi pankreatyt: pryntsy py khirurhichnoi taktyky z vykorystanniam miniinvazyvnykh tekhnolohii i standartnykh operatsii [An acute complicated pancreatitis: principles of surgical tactics, using miniinvasive technologies and standard operations]. *Klinichna khirurgiia*, 85(6), 10-12. doi: 10.26779/2522-1396.2018.06.10 [in Ukrainian].
- [5] Lang, T. A., & Sesik, M. (2011). Kak opisyivat statistiku v medicine. Annotirovanoe rukovodstvo dlya avtorov, redaktorov i recenzentov [How to report statistics in medicine]. Moscow. [in Russian].
- [6] Rebrova, O. Ju. (2002). Statisticheskij analiz meditsinskih danyih. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Medical data statistical analysis. STATISTICA software package application]. Moscow. [in Russian].
- [7] Julious, S. (2005). Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods by Robert G. Newcombe, *Statistics in Medicine* 1998;17:857-872. *Statistics In Medicine*, 24(21), 3383-3384. doi: 10.1002/sim.2164

## Особенности трансплантации правой доли печени вд живого роднинного донора

О. Г. Котенко<sup>E,F</sup>, А. А. Минич<sup>\*A-D</sup>

Национальный институт хирургии та трансплантологии имени О. О. Шалимова НАМН Украины, м. Київ

A – концепция та дизайн исследования; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редактування статті; F – остаточное утверждение статті

### Ключевые слова:

трансплантация правой доли печени від живого роднинного донора, ускладнення інтраоперационні, результати трансплантации, захворюваність.

### Запорізький

### медичний

журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 744–750

### DOI:

10.14739/2310-1210.2019.6.186495

### \*E-mail:

artminich@gmail.com

**Мета роботи** – визначити особливості трансплантации ґрафтів правої доли печінки від живого роднинного донора з і без включення до них серединної печінкової вени.

**Матеріали та методи.** Аналіз доопераційних, інтраопераційних і післяопераційних даних 76 реципієнтів, яким трансплантовано праву долю печінки від живого роднинного донора з різними типами реконструкції печінкових вен: група 1 – пацієнти, яким трансплантовано праву долю печінки з серединною печінковою веною, група 2 – реципієнти, яким трансплантовано праву долю печінки без серединної печінкової вени. Для порівняльного аналізу використовували біохімічні показники крові та параметри регіонарної гемодинаміки в обох групах протягом першого тижня та на 10, 14, 21, 30 добу після трансплантации.

**Результати.** У групі 1 спостерігали вищі значення Q<sub>вв</sub>: 649 ± 220 м/хв, 1222 ± 491 м/хв; 1264 ± 372 м/хв; 1166 ± 284 м/хв; 1016 ± 211 м/хв; 1095 ± 301 м/хв) – порівняно з групою 2: 643 ± 230 м/хв; 1127 ± 385 м/хв; 1132 ± 372 м/хв; 1030 ± 263 м/хв; 980 ± 254 м/хв; 922 ± 293 м/хв на 0, 1, 3, 5, 7, 30 добу після трансплантации відповідно (p < 0,05). ЛШКпа та RІпа зростали до вищих значень у групі 2 (від 0,54 м/с до 0,69 м/с і від 0,63 м/с до 0,69 м/с відповідно; p < 0,05) порівняно з групою 1 (від 0,58 м/с до 0,62 м/с та від 0,62 м/с до 0,69 м/с відповідно; p < 0,05). У післяопераційному періоді рівень загального білірубину у групі 1 (трансплантати з серединною печінковою веною) був суттєво нижчим, а рівень трансаміназ вищим порівняно з групою 2 (p < 0,05). У групі реципієнтів, яким трансплантували праву долю печінки з серединною веною, визначена менша частота розвитку «синдрому малого печінкового трансплантата» (17,94 % проти 27,00 % у групі 2; p < 0,05)

**Висновки.** Під час трансплантации правої доли печінки наявність серединної печінкової вени у трансплантаті корелює зі зниженням частоти розвитку післяопераційних ускладнень, синдрому малого печінкового трансплантата. Адекватний венозний відтік при достатньому об'ємі трансплантата правої доли печінки визначає функціональну масу трансплантата.

### Ключевые слова:

трансплантация правой доли печени от живого родственного донора, осложнения интраоперационные, результаты трансплантации, заболеваемость.

### Запорізький

### медичний

журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 744–750

## Особенности трансплантации правой доли печени от живого родственного донора

О. Г. Котенко, А. А. Минич

**Цель работы** – определить особенности трансплантации ґрафтов правой доли печени от живого родственного донора с/ без включения в них срединной печеночной вены.

**Материалы и методы.** Проведен анализ дооперационных, интраоперационных и послеоперационных данных 76 реципиентов, которым трансплантирована правая доля печени от живого донора с различными типами реконструкции печеночных вен: группа 1 – пациенты, которым трансплантирована правая доля печени со срединной печеночной веной; группа 2 – реципиенты, которым трансплантирована правая доля печени без срединной печеночной вены. Для сравнительного анализа использовали данные биохимических показателей крови и параметры регионарной гемодинамики в обеих группах в течение первой недели, на 10, 14, 21, 30 сутки после трансплантации.

**Результаты.** В группе 1 отмечены более высокие значения Q<sub>вв</sub>: 649 ± 220 мл/мин; 1222 ± 491 мл/мин; 1264 ± 372 мл/мин; 1166 ± 284 мл/мин; 1016 ± 211 мл/мин; 1095 ± 301 мл/мин – по сравнению с группой 2: 643 ± 230 мл/мин; 1127 ± 385 мл/мин; 1132 ± 372 мл/мин; 1030 ± 263 мл/мин; 980 ± 254 мл/мин; 922 ± 293 мл/мин на 0, 1, 3, 5, 7, 30 сутки после трансплантации соответственно (p < 0,05). ЛСКпа и индекс резистентности в печеночной артерии росли до более высоких значений в группе 2 (от 0,54 м/с до 0,69 м/с и от 0,63 м/с до 0,69 м/с соответственно; p < 0,05) по сравнению с группой 1 (от 0,58 м/с до 0,62 м/с и от 0,62 м/с до 0,69 м/с соответственно; p < 0,05). В послеоперационном периоде уровень общего билирубина в группе 1 (трансплантаты со срединной печеночной веной) был существенно ниже, а уровень трансаміназ выше по сравнению с группой 2 (p < 0,05). В группе реципиентов, которым трансплантирована правая доля печени со срединной веной, была ниже частота развития «синдрома малого печеночного трансплантата» (17,94 % против 27,00 % в группе 2; p < 0,05).

**Выводы.** При трансплантации правой доли печени наличие срединной печеночной вены в трансплантате коррелирует со снижением частоты развития послеоперационных осложнений, синдрома малого печеночного трансплантата. Адекватный венозный отток при достаточном объеме трансплантата правой доли печени определяет функциональную массу трансплантата.

## Features of right lobe liver transplantation from living related donor

O. H. Kotenko, A. A. Minich

**Aim.** To determine the peculiarities of liver transplantation using right lobe graft from living related donor with and without the middle hepatic vein inclusion.

**Materials and methods.** The study has analyzed preoperative, intraoperative and postoperative data of 76 recipients who underwent right lobe living donor liver transplantation with different types of hepatic vein reconstruction: group 1 – patients who received a right lobe liver graft with a middle hepatic vein, and group 2 – recipients of right lobe liver graft without the middle hepatic vein. For comparative analysis, we used biochemical and regional hemodynamic parameters in both groups during the first week and on days 10, 14, 21 and 30 after transplantation.

**Results.** In group 1, the higher values of Qpv – 649 ± 220 ml/min, 1222 ± 491 ml/min; 1264 ± 372 ml/min; 1166 ± 284 ml/min; 1016 ± 211 ml/min; 1095 ± 301 ml/min were observed compared to group 2 – 643 ± 230 ml/min; 1127 ± 385 ml/min; 1132 ± 372 ml/min; 1030 ± 263 ml/min; 980 ± 254 ml/min; 922 ± 293 ml/min on days 0, 1, 3, 5, 7 and 30 after transplantation, respectively, ( $P < 0.05$ ). Peak systolic velocity (PSV) and resistance index of hepatic artery (RI<sub>ha</sub>) were increased to higher values in group 2 (from 0.54 m/s to 0.69 m/s and from 0.63 to 0.69, respectively,  $P < 0.05$ ) compared to group 1 (from 0.58 m/s up to 0.62 m/s and from 0.62 m/s to 0.69 m/s, respectively,  $P < 0.05$ ). In the postoperative period, the level of total bilirubin in group 1 (grafts with middle hepatic vein) was significantly lower and the level of transaminases was higher than in group 2. In the group of recipients, who had a graft with middle hepatic vein, the frequency of small-for-size syndrome (SFSS) was lower compared with group 2 (17.94 % vs 27.00 %,  $P < 0.05$ ).

**Conclusions.** When performing the right lobe liver transplantation, the middle hepatic vein presence in the graft is correlated with a decrease in the frequency of postoperative complications and small for size syndrome development. Adequate venous outflow with sufficient volume of right lobe liver graft determines the functional graft mass.

**Key words:** living related donor liver transplantation, intraoperative complications, outcomes in right lobe liver transplantation, morbidity.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 744–750

Термінальні стадії хронічних захворювань печінки, первинні пухлини печінки, метаболічні захворювання печінки – одні з основних причин захворюваності та смертності у світі [1,2]. Трансплантація печінки – єдиний наявний метод радикального лікування пацієнтів із цією патологією [3]. В умовах обмеженої кількості трупних органів, релігійних переконань і законодавчих обмежень широкого розвитку набула трансплантація органів або їхньої частини від живих донорів [4]. Трансплантат частини печінки (правої або лівої частки) при адекватній функціональній масі забезпечує всі метаболічні потреби організму [5]. Права доля печінки – оптимальний вибір, оскільки її функціональна маса є достатньою для реципієнта, а власне процедура взяття за наявності досвіду та відповідної кваліфікації є безпечною для донора [6]. Більшість світових трансплантаційних центрів надають перевагу взяттю правої долі без серединної печінкової вени, розраховуючи на венозний відтік від передньої секції печінки через праву печінкову вену, яка домінує. Тільки поодинокі центри, як-от Kioto University Hospital (K. Tanaka) і University of Hong Kong Medical Centre (S. T. Fan) [7] використовують як ґрафт трансплантат правої долі з серединною печінковою веною. Це пов'язано з тим, що сама процедура взяття та реконструкції венозного відтоку від таких трансплантатів є технічно складнішою. Але такий підхід забезпечує оптимальний венозний дренаж шляхом анастомозування правої та серединної вен трансплантата з нативними печінковими венами реципієнта [8]. Використання трансплантатів із неадекватним венозним відтоком здебільшого супроводжується розвитком синдрому малого печінкового трансплантата [9], що прямо корелює зі зниженням загальної виживаності та виживаністю трансплантата в таких пацієнтів [10,11]. Функціональність трансплантата визначається не його фактичною масою, а об'ємом життєздатної печінкової паренхіми, що залежний від оптимального кровопостачання та адекватного венозного відтоку.

## Мета роботи

Визначити особливості трансплантації ґрафтів правої долі печінки від живого родинного донора з і без включення до них серединної печінкової вени.

## Матеріали і методи дослідження

Виконали аналіз доопераційних, інтраопераційних і післяопераційних даних 76 реципієнтів, яким виконали трансплантацію правої долі печінки від живого родинного донора з приводу термінальних стадій захворювань печінки у 2003–2017 рр. (відділ хірургії та трансплантації печінки ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова»). Вік пацієнтів становив від 14 до 58 років.

У 39 випадках трансплантатом була права доля печінки з серединною печінковою веною (група 1 – з МНВ), у 37 – права доля без серединної печінкової вени (група 2 – без МНВ). Нозології, з приводу яких виконували трансплантації печінки, деталізовані в таблиці 1.

У групі 1 – 23 реципієнти чоловічої статі, 16 – жіночої; у групі 2 – 19 і 18 відповідно. Вік реципієнтів – 18–50 років (група 1) і від 14–58 (група 2) ( $p < 0,05$ ). Маса тіла у групі реципієнтів, які отримали трансплантат із серединною печінковою веною, коливалась від 48 кг до 78 кг, у групі 2 – від 45 кг до 68 кг ( $p < 0,05$ ). Діагноз цирозу підтверджений гістологічно. Пацієнтам із синдромом портальної гіпертензії та гепатоцелюлярною недостатністю класу С (за класифікацією Чайлд–П'ю) здійснили медикаментозну корекцію для стабілізації процесу. Ступінь термінальної стадії захворювання печінки розраховували за MELD (Model For End-Stage Liver Disease) – модель для оцінювання термінальних стадій захворювань печінки та прогнозу життя в пацієнтів із кінцевою стадією печінкової недостатності, що визначається на підставі показників сироваткового рівня креатиніну, білірубину, натрію та значення міжнародного нормалізованого співвідношення – МНС (INR).

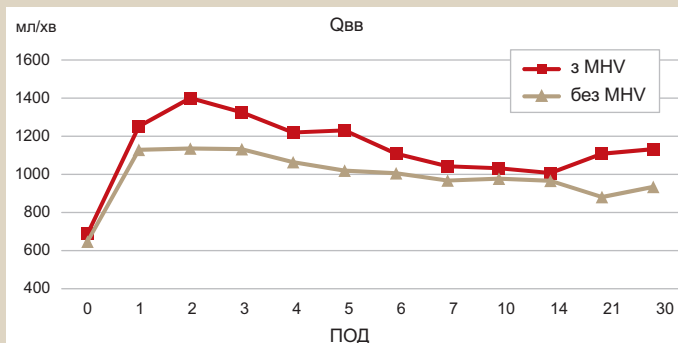
Для визначення функціонального стану трансплантата оцінювали параметри гепатоспланхнічного кровотоку (об'ємний ворітний кровоток, лінійна швидкість кровотоку та індекс резистентності в печінковій артерії) та біохімічних параметрів крові (показники сироваткового білірубину, аланінамінотрансферази – АЛТ, аспартатамінотрансферази – АЛТ, гамма-глутамілтранспептидази – ГГТП, лужної фосфатази – ЛФ, протромбінового часу – ПЧ, міжнародного нормалізованого співвідношення – МНС) на доопераційному етапі протягом першого тижня та на 10, 14, 21, 30 добу після операції.

**Таблиця 1.** Нозології, що потребували трансплантації печінки у групах 1 і 2

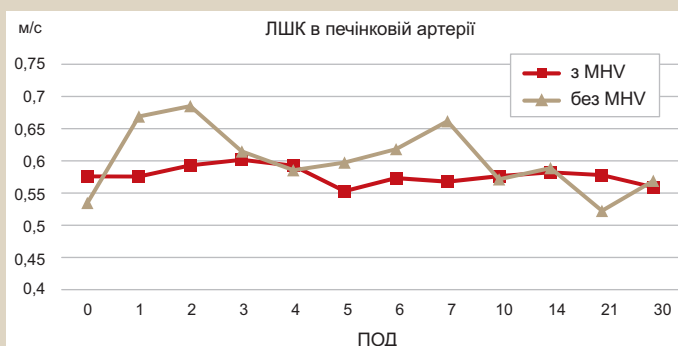
Назви захворювань	Група 1	Група 2
Цироз печінки вірусної етіології (HBV)	20,51 % (n = 8)	18,9 % (n = 7)
Цироз печінки вірусної етіології (HCV)	12,8 % (n = 5)	10,8 % (n = 4)
Цироз печінки вірусної етіології (HBV + HCV)	2,5 % (n = 1)	8,1 % (n = 3)
Криптогенний цироз печінки	15,3 % (n = 6)	16,2 % (n = 6)
Синдром Бада–Кіарі	–	8,1 % (n = 3)
Хвороба Клатскіна	–	5,4 % (n = 2)
Автоімунний цироз печінки	15,3% (n = 6)	8,1 % (n = 3)
Алкогольний цироз печінки	–	5,4 % (n = 2)
Хвороба Вільсона	2,5 % (n = 1)	2,7 % (n = 1)
Хвороба Каролі	5,1 % (n = 2)	2,7 % (n = 1)
Гепатобластома	–	2,7 % (n = 1)
Метастаз нейроендокринної пухлини в печінку	–	2,7 % (n = 1)
Первинний біліарний цироз	5,1 % (n = 2)	5,4 % (n = 2)
Первинний рак печінки + цироз (HBV)	7,6 % (n = 3)	2,7 % (n = 1)
Цироз печінки вірусної етіології (HBV + HDV)	5,1 % (n = 2)	–
Первинний склерозувальний холангіт	7,6 % (n = 3)	–

**Таблиця 2.** Інтраопераційні дані

	Група 1	Група 2	p-значення
Крововтрата (мл)	912 ± 96	889 ± 80	<0,05
Тривалість холодової ішемії (хв)	63,0 ± 22,3	49,0 ± 15,3	<0,05
Тривалість теплової ішемії (хв)	61,5 ± 8,0	42,5 ± 7,0	<0,05
Тривалість операції (хв)	614 ± 86	565 ± 93	<0,05



**Рис. 1.** Динаміка змін об'ємного воротного кровотоку в обох групах.



**Рис. 2.** Динаміка змін лінійної швидкості кровотоку в печінковій артерії в обох групах.

Тривалість донорського етапу при взятті правої долі з серединною печінковою веною становила 486 ± 71 хв, при взятті без серединної вени – 463 ± 48 хв (p < 0,05). Крововтрата у групі донорів трансплантатів правої долі з серединною веною – 315 ± 146 мл; без сере-

динної вени – 323 ± 178 мл (p < 0,05). Для реципієнтів у групі 1 середня крововтрата була на рівні 780 мл (діапазон – 340–6 000 мл), у групі 2 – 687 мл (діапазон – 280–4700 мл), p < 0,05. Тривалість оперативного втручання на реципієнті: група 1 – 614 ± 86 хв; група 2 – 565 ± 93 хв (p < 0,05). Середня маса трансплантата правої долі з серединною веною – 792,2 г (діапазон 600–1010 г), трансплантата без серединної вени – 821,9 г (діапазон – 740–902 г), p < 0,05. Індекс співвідношення маси трансплантата до маси тіла реципієнта (GBWR): група 1 – 0,86 (0,79–1,2); група 2 – 0,75 (0,73–0,96), p < 0,05.

Для оцінювання типу, частоти ускладнень в обох групах із різними варіантами реконструкції венозного відтоку від правої долі печінки використовували класифікацію Clavien–Dindo (2004).

Статистично результати опрацювали, використовуючи програмний пакет SPSS 20. Метод статистичного аналізу обрали на підставі розподілу даних. Вірогідними вважали результати тестів із рівнем значущості p < 0,05. Відповідність розподілу досліджуваної вибірки нормальному визначали за допомогою тесту Шапіро–Уїлка. У всіх вибірках виявили розподіл відмінностей від нормального.

## Результати

Тривалість оперативного втручання у групах 1 і 2 становила 614 ± 86 і 565 ± 93 хв відповідно (табл. 2). Різниця тривалості холодової (63,0 ± 22,3 хв; 49,0 ± 15,3) та теплової (61,5 ± 8,0 хв; 42,5 ± 7,0 хв) ішемії між групами зумовлена додатковою венозною реконструкцією у групі трансплантатів із серединною печінковою веною.

Об'єм крововтрати в обох групах суттєво не відрізнявся (912 ± 96 мл і 889 ± 80,0 мл відповідно). Статистична вірогідність розрахували за допомогою непараметричних критеріїв для незалежних вибірок Манна–Уїтні.

Для аналізу регіонарної гемодинаміки трансплантатів правої долі використовували гемодинамічні параметри кровотоку на підставі доплерографічної ультразвукової флоуметрії: об'ємний воротний кровотік (Qвв), лінійна швидкість кровотоку (ЛШКпа) та індекс резистентності в печінковій артерії (RІпа) обох груп на доопераційному етапі та на 1–7, 10, 14, 30 післяопераційну добу.

У групі 1 спостерігали вищі значення Qвв – 649 ± 220 мл/хв; 1222 ± 491 мл/хв; 1264 ± 372 мл/хв; 1166 ± 284 мл/хв; 1016 ± 211 мл/хв; 1095 ± 301 мл/хв порівняно з групою 2 – 643 ± 230 мл/хв; 1127 ± 385 мл/хв; 1132 ± 372 мл/хв; 1030 ± 263 мл/хв; 980 ± 254 мл/хв; 922 ± 293 мл/хв на 0, 1, 3, 5, 7, 30 добу після трансплантації відповідно (рис. 1) (p < 0,05). ЛШКпа і RІпа зростали до вищих значень у групі 2 (від 0,54 м/с до 0,69 м/с і від 0,63 м/с до 0,69 м/с відповідно, p < 0,05) порівняно з групою 1 (від 0,58 м/с до 0,62 м/с і від 0,62 м/с до 0,69 м/с відповідно, p < 0,05) (рис. 2,3).

Функцію трансплантата в післяопераційному періоді оцінювали шляхом визначення показників крові, що вже описані. У післяопераційному періоді рівень загального білірубину у групі 1 (трансплантати з серединною печінковою веною) був суттєво нижчим порівняно з групою 2



(трансплантати без серединної печінкової вени) (рис. 4). У групі 1 спостерігали поступове підвищення середнього рівня сироваткового білірубину з 1 до 3 післяопераційної доби, досягаючи проміжного пікового значення в 167,03 мкмоль/л (діапазон – 47–643 мкмоль/л); у групі 2 динаміка була схожою, проміжне максимальне значення спостерігали на 3 добу після оперативного втручання – 199,78 мкмоль/л (діапазон – 20–643 мкмоль/л). У період від 3 до 5 доби після трансплантації цей показник у групі пацієнтів із трансплантатами з серединною веною знижувався, досягаючи середнього значення 135,94 мкмоль/л (48–300 мкмоль/л); у групі 2, починаючи з 3 доби, післяопераційний рівень білірубину поступово знижувався, досягаючи проміжного середнього значення на 6 післяопераційну добу – 157,92 мкмоль/л (11–524 мкмоль/л). Від 5 до 6 доби у групі 1 спостерігали незначне зростання рівня загального білірубину до максимального пікового значення, що дорівнювало 146 мкмоль/л (діапазон – 45–652 мкмоль/л). Надалі в період спостереження рівень білірубину знижувався в обох групах, але динаміка була суттєво вираженішою у групі пацієнтів, яким виконали трансплантацію правої долі печінки з серединною веною.

Рівень трансаміназ різко зростав з 1 до 3 післяопераційної доби: максимальні значення АЛТ – 169,5 Од/л (діапазон – 18–1097 Од/л) і 299,68 Од/л (діапазон – 52–1456 Од/л) на третю післяопераційну добу у групах 1 і 2 відповідно ( $p < 0,05$ ) (рис. 5); АСТ – 178,86 Од/л (діапазон – 77–1272 Од/л) на 3 післяопераційну добу у групі 1 і 287,78 Од/л (діапазон – 34–1807 Од/л) на 2 добу після трансплантації, у групі 2 ( $p < 0,05$ ) (рис. 6). Починаючи з 3 доби, рівень АЛТ поступово знижувався з 169,5 Од/л (діапазон – 89–834 Од/л) на 3 добу після операції до 48,80 Од/л (24–234 Од/л) на 30 післяопераційну добу у групі 1 та з 238,73 Од/л (58–967 Од/л) на 4 післяопераційну добу до 78,56 Од/л (17–321 Од/л) на 30 добу після операції у групі 2. Щодо рівня АСТ, то динаміка змін була ідентичною: починаючи з 3 доби після операції, у групі 1 спостерігали суттєве зниження рівня ферментів (середні значення – 178,86 Од/л на 3 післяопераційну добу до 41,33 Од/л на 30 добу після операції); у групі 2 середнє значення показника знижувалось, починаючи з 2 доби після трансплантації, з 287,92 Од/л до 62,43 Од/л на 30 післяопераційну добу). У групі трансплантатів правої долі печінки без серединної печінкової вени рівні ферментів були суттєво вищі протягом усього періоду спостереження, хоча і спостерігали позитивну динаміку до зниження.

Зміни рівня холестатичних ферментів (ГГТП, ЛФ) в обох групах ідентичні, не встановили статистично значущої різниці в реципієнтів із трансплантатом правої долі печінки з серединною печінковою веною та без неї.

Розрізняли судинні, біліарні та інфекційно-септичні ускладнення, що виникли в післяопераційному періоді після трансплантації правої долі печінки (табл. 3).

Найчастіше у групі дослідження та групі порівняння визначали ускладнення категорії II за класифікацію Clavien–Dindo (2004). У 20 (51,28 %) пацієнтів групи 1 і 21 (56,75 %) групи 2 спостерігали гострий криз відторгнення трансплантата, що проявлявся змінами лабораторних показників крові: зростанням АСТ, АЛТ, ГГТП, ЛФ і рівня білірубину. Ці прояви здебільшого коригували, добираю-

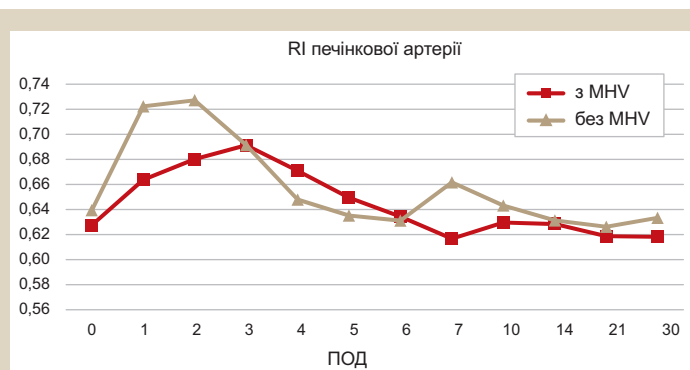


Рис. 3. Динаміка змін індексу резистентності в печінковій артерії в обох групах.

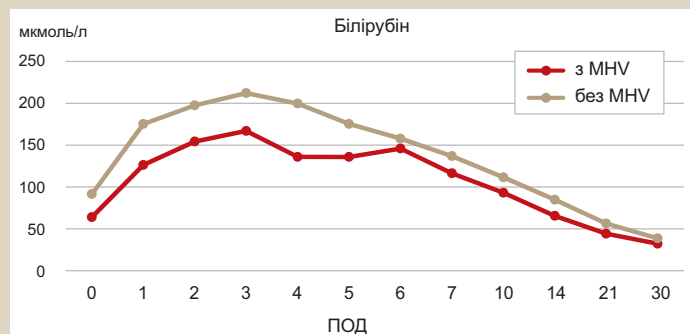


Рис. 4. Динаміка змін рівня білірубину в обох групах.

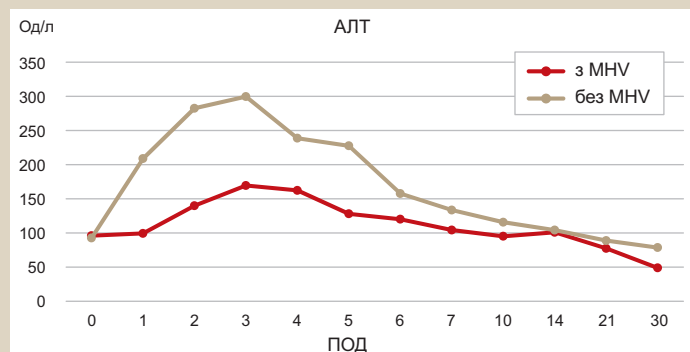


Рис. 5. Динаміка змін рівня АЛТ в обох групах.

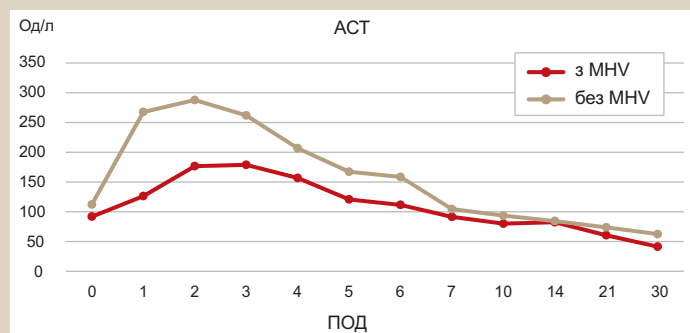


Рис. 6. Динаміка рівня АСТ в обох групах.

чи оптимальну дозу імунодепресантів, короткочасними курсами «пульс-терапії» кортикостероїдами. У випадках кортикостерезистентних кризів (у 5 і 4 пацієнтів у групах 1 і 2 відповідно) використовували тимоглобулін до нормалізації рівня цитолітичних ферментів. Частота

Таблиця 3. Ускладнення в реципієнтів обох груп, n (%)

Вид ускладнення	Група 1 (з МНВ)	Група 2 (без МНВ)	p-value
<b>Судинні ускладнення</b>			
Тромбоз печінкової артерії	2 (5,12 %)	3 (8,1 %)	0,626
Тромбоз ворітної вени	0	1 (2,7 %)	0,812
Стеноз печінкової артерії	1 (2,56 %)	1 (2,7 %)	0,242
<b>Біліарні ускладнення</b>			
Стеноз біліарного анастомозу	2 (5,12 %)	1 (2,7 %)	0,444
Жовчотеча	1 (2,56 %)	1 (2,7 %)	0,855
Недостатність гепатикоєноанастомозу	1 (2,56 %)	0	0,742
<b>Інфекційно-септичні ускладнення</b>			
Післяопераційний сепсис, поліорганна недостатність	4 (10,22 %)	6 (16,2 %)	0,163
Гепаторенальний синдром	1 (2,56 %)	2 (5,4 %)	0,506
Абсцес трансплантата	1 (2,56 %)	0	0,112
Неспецифічні хірургічні ускладнення	8 (20,5 %)	10 (27 %)	0,391

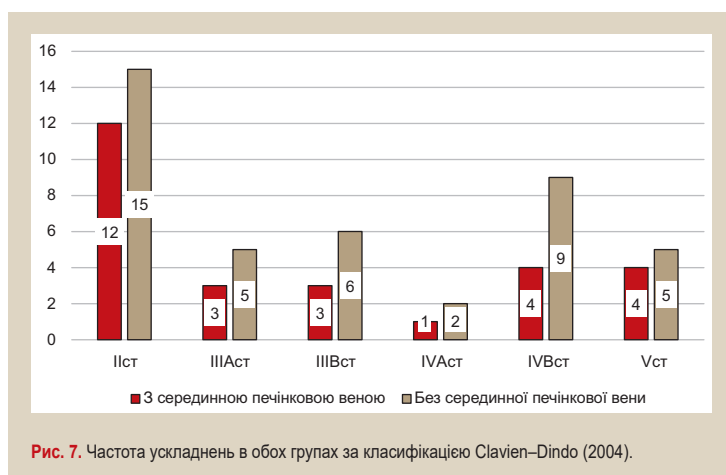


Рис. 7. Частота ускладнень в обох групах за класифікацією Clavien-Dindo (2004).

ускладнень категорій II–V наведена на рис. 7. Поліорганна недостатність і стани, що потребували інтенсивного або оперативного втручання, виникали частіше у групі реципієнтів, які отримали трансплантат правої долі печінки без серединної печінкової вени, хоча ця різниця не була статистично вірогідною ( $p > 0,05$ ).

Частота розвитку «синдрому малого печінкового трансплантата» (SFSS) у групах 1 і 2 становила 17,9 % (у 7 реципієнтів) і 27,7 % (у 10 реципієнтів) відповідно.

Середня тривалість перебування реципієнтів у відділенні реанімації та інтенсивної терапії у групах 1 і 2 становила 4 і 5 днів відповідно. Середня тривалість перебування у стаціонарі у групі з трансплантатом правої долі печінки з серединною печінковою веною – 21 день; у групі реципієнтів, яким трансплантовано праву долю печінки без серединної вени – 27 днів ( $p < 0,05$ ).

### Обговорення

Трансплантація печінки в багатьох випадках – єдиний метод збереження життя [12]. Гострий дефіцит трупних органів і релігійні переконання стали поштовхом для розвитку трансплантації від живого родинного донора, що дало можливість суттєво скоротити лист очікування на орган [13].

Трансплантація правої долі від живого донора з включенням серединної вени запропонована як трансплантат адекватної функціональної маси, особливо у

випадках, коли маса донора менша за масу реципієнта [14]. Незважаючи на те, що доцільність трансплантації таких типів доведена багатьма дослідженнями, деякі центри надають перевагу взяттю трансплантатів правої долі без серединної вени, пояснюючи це більшою тривалістю та інтраопераційною крововтратою в донорів [15]. Але після трансплантації таких типів ґрафтів унаслідок порушення венозного відтоку та конгестії передньої секції печінки можуть виникати різноманітні ускладнення, особливо у віддаленому післяопераційному періоді [16].

Усі трансплантати від живого родинного донора є «трансплантатами малого розміру», що робить їх вразливими до реперфузійних пошкоджень [17]. Рівень пошкодження, як правило, обернено пропорційний об'єму ґрафта. Ішемічно-реперфузійні пошкодження (ІРП) відіграють ключову роль у розвитку «синдрому малого печінкового трансплантата», що проявляється коагулопатією, енцефалопатією, асцитопродукцією та пролонгованою жовтяницею. Пусковим механізмом цих пошкоджень є гіпердинамічний портальний кровотік через невеликий печінковий трансплантат, що призводить до пошкодження синусоїдальних ендотеліальних клітин. Коли порушується цілісність ендотеліальних клітин, відбувається адгезія лейкоцитів до гепатоцитів із запуском каскаду коагуляційних реакцій, унаслідок чого порушується кровообіг [5].

У метааналізі 11 досліджень, що виконаний Zhang [18], не виявили суттєвої різниці у відновленні біохімічних функцій, тривалості перебування в госпіталі та частоті ускладнень між групами донорів, у яких взято праву долю печінки без серединної печінкової вени та з нею [18].

Останні дані наукової літератури та власний досвід свідчать: взяття трансплантата правої долі з серединною веною – безпечна операція, що не пов'язана зі збільшенням частоти ускладнень у донора. Але тривалість оперативного втручання протягом донорського етапу та етапу судинної реконструкції в реципієнта дещо вища, а у випадку трансплантації правої долі з серединною веною, що пов'язано з додатковими анастомозами при реконструкції венозного відтоку, але немає різниці за об'ємом крововтрати та потребою в гемотрансфузії.

Аналізуючи післяопераційні результати реципієнтів, у цьому дослідженні виявили більшу частоту судинних ускладнень у групі реципієнтів, які отримали трансплантат правої долі без серединної вени порівняно з групою 2.

Ці результати пов'язані зі збільшенням частоти розвитку печінкової недостатності внаслідок меншої та здебільшого недостатньої функціональної маси трансплантата в ранньому післяопераційному періоді у групі реципієнтів із правою долею печінки без серединної вени.

### Висновки

1. При трансплантації правої частки печінки з серединною веною розвивається гіпердинамічний тип спланхнічного кровообігу зі збільшенням об'ємного портального кровотоку, відповідно, зменшенням артеріального та збільшенням загального печінкового кровотоку.

2. Пікові значення показників кровообігу у трансплантаті визначили в перші 3 доби після трансплантації з поступовим зниженням їх до 7 доби після трансплантації. Суттєво виражене збільшення кровообігу встановили у трансплантатах правої частки печінки з серединною веною.

3. У трансплантатах із серединною печінковою веною пікові значення сироваткового білірубину й рівня цитолітичних ферментів були нижчими порівняно з трансплантатами без серединної вени, що свідчить про швидке та повноцінне відновлення білковосинтетичної та дезінтоксикаційної функцій у трансплантатах цього типу.

4. Венозний відтік при достатньому об'ємі трансплантата правої частки печінки визначає функціональну масу трансплантата.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 30.07.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.08.2019

Прийнято до друку / Accepted: 30.08.2019

#### Відомості про авторів:

Котенко О. Г., д-р мед. наук, професор, керівник відділу хірургії та трансплантації печінки, Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова, м. Київ, Україна. ORCID ID: 0000-0001-8264-7374

Мініч А. А., аспірант, хірург-трансплантолог, відділ хірургії та трансплантації печінки, Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова, м. Київ, Україна. ORCID ID: 0000-0002-1003-2095

#### Сведения об авторах:

Котенко О. Г., д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела хирургии и трансплантации печени, Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова, г. Киев, Украина.

Минич А. А., аспирант, хирург-трансплантолог, отдел хирургии и трансплантации печени, Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова, г. Киев, Украина.

#### Information about authors:

Kotenko O. H., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Surgery and Liver Transplantation, O. O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantation, Kyiv, Ukraine.

Minich A. A., MD, PhD Student, Transplant Surgeon, Department of Surgery and Liver Transplantation, O. O. Shalimov National Institute of Surgery and Transplantation, Kyiv, Ukraine.

#### Список літератури

- [1] An unusual case of double-chambered left ventricle / A. Destounis et al. *Journal Of Echocardiography*. 2019. Vol. 17. Issue 3. P. 167-168. doi: 10.1007/s12574-018-0393-5
- [2] Durability of small-for-size living donor allografts / K. Au et al. *Liver Transplantation*. 2015. Vol. 21. Issue 11. P. 1374-1382. doi: 10.1002/lt.24205
- [3] Safe use of right lobe live donor livers with up to 20% macrovesicular steatosis without compromising donor safety and recipient outcome / P. Bhangui et al. *Transplantation*. 2019. doi: 10.1097/tp.0000000000002847
- [4] Morbidity and mortality of hepatic right lobe living donors: systematic review and perspectives / P. Brige et al. *Journal Of Gastrointestinal And Liver Diseases*. 2018. Vol. 27. Issue 2. P. 169-178. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.272.mor
- [5] Hepatic ischemia reperfusion injury: A systematic review of literature and the role of current drugs and biomarkers / M. Cannistrà et al. *International Journal Of Surgery*. 2016. Vol. 33. Suppl. 1. P. S57-S70. doi: 10.1016/j.ijsu.2016.05.050

- [6] Clinical strategy for the reconstruction of middle hepatic vein tributaries in right liver living donor liver transplantation / K. Chan et al. *World Journal Of Surgery*. 2014. Vol. 38. Issue 11. P. 2927-2933. doi: 10.1007/s00268-014-2667-z
- [7] Middle hepatic vein reconstruction in adult right lobe living donor liver transplantation improves recipient survival / H. Guo et al. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. 2019. Vol. 18. Issue 2. P. 125-131. doi: 10.1016/j.hbpd.2019.01.006
- [8] Results of adult living donor liver transplantation with sixth-decade donors: a propensity score matching study in a high-volume institution / S. Kim et al. *Annals Of Transplantation*. 2018. Vol. 23. P. 802-807. doi: 10.12659/aot.911550
- [9] Older donor age is a risk factor for negative outcomes after adult living donor liver transplantation using small-for-size grafts / M. Macshut et al. *Liver Transplantation*. 2019. Vol. 25. Issue 10. P. 1524-1532. doi: 10.1002/lt.25601
- [10] Minimum graft size calculated from preoperative recipient status in living donor liver transplantation / S. Marubashi et al. (2016). *Liver Transplantation*. Vol. 22. Issue 5. P. 599-606. doi: 10.1002/lt.24388
- [11] Living donor liver transplantation in Europe / S. Nadalin et al. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2016. Vol. 5. Issue 2. P. 159-175. doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2015.10.04
- [12] A twenty-year review of clinical liver transplantation / Z. Shen et al. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2019. Vol. 31. Issue 3. P. 269-280. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.03.004
- [13] Small for size syndrome difficult dilemma: Lessons from 10 years single centre experience in living donor liver transplantation / H. Shoreem et al. *World Journal Of Hepatology*. 2017. Vol. 9. Issue 21. P. 930. doi: 10.4254/wjh.v9.i21.930
- [14] Post reperfusion syndrome during liver transplantation: From pathophysiology to therapy and preventive strategies / A. Siniscalchi et al. *World Journal of gastroenterology*. 2016. Vol. 22. Issue 4. P. 1551-1569. doi: 10.3748/wjg.v22.i4.1551
- [15] Outcomes of adult-to-adult living donor liver transplantation in 321 recipients / H. Uchiyama et al. *Liver Transplantation*. 2016. Vol. 22. Issue 3. P. 305-315. doi: 10.1002/lt.24378
- [16] Disparities in Eurotransplant liver transplantation wait-list outcome between patients with and without model for end-stage liver disease exceptions / A. Umgelter et al. *Liver Transplantation*. 2017. Vol. 23. Issue 10. P. 1256-1265. doi: 10.1002/lt.24805
- [17] Prognosis of patients following liver transplant from deceased and living donors / K. Yesmembetov et al. *Experimental And Clinical Transplantation*. 2018. Vol. 16. Issue 1. Suppl. 1. P. 152-153. doi: 10.6002/ect.TONDTDT2017.P42
- [18] Yi P., Zhang M., Xu M. Management of the middle hepatic vein in right lobe living donor liver transplantation: A meta-analysis. *Journal Of Huazhong University Of Science And Technology [Medical Sciences]*. 2015. Vol. 35. Issue 4. P. 600-605. doi: 10.1007/s11596-015-1477-3

#### References

- [1] Destounis, A., Tountas, C., Theodosis-Georgilas, A., Zahos, P., Kasinos, N., Palios, J., & Beldekos, D. (2019). An unusual case of double-chambered left ventricle. *Journal Of Echocardiography*, 17(3), 167-168. doi: 10.1007/s12574-018-0393-5
- [2] Au, K., Chan, S., Chok, K., Chan, A., Wong, T., Sharr, W., & Lo, C. (2015). Durability of small-for-size living donor allografts. *Liver Transplantation*, 21(11), 1374-1382. doi: 10.1002/lt.24205
- [3] Bhangui, P., Sah, J., Choudhary, N., Gautam, D., Gupta, V., & S. T. et al. (2019). Safe use of right lobe live donor livers with up to 20% macrovesicular steatosis without compromising donor safety and recipient outcome. *Transplantation*. doi: 10.1097/tp.0000000000002847
- [4] Brige, P., Hery, G., Chopinet, S., Palen, A., Azoulay, D., & Gregoire, E. (2018). Morbidity and mortality of hepatic right lobe living donors: systematic review and perspectives. *Journal Of Gastrointestinal And Liver Diseases*. 27(2), 169-178. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.272.mor
- [5] Cannistrà, M., Ruggiero, M., Zullo, A., Gallelli, G., Serafini, S., & Maria, M. et al. (2016). Hepatic ischemia reperfusion injury: A systematic review of literature and the role of current drugs and biomarkers. *International Journal Of Surgery*, 33, suppl. 1, S57-S70. doi: 10.1016/j.ijsu.2016.05.050
- [6] Chan, K., Cheng, C., Wu, T., Wu, T., Chou, H., Lee, C., & Lee, W. (2014). Clinical strategy for the reconstruction of middle hepatic vein tributaries in right liver living donor liver transplantation. *World Journal Of Surgery*, 38(11), 2927-2933. doi: 10.1007/s00268-014-2667-z
- [7] Guo, H., Wang, K., Chen, K., Liu, Z., Al-Ameri, A., & Shen, Y. et al. (2019). Middle hepatic vein reconstruction in adult right lobe living donor liver transplantation improves recipient survival. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 18(2), 125-131. doi: 10.1016/j.hbpd.2019.01.006

- [8] Kim, S., Park, G., Hwang, S., Ahn, C., Kim, K., & Moon, D. et al. (2018). Results of adult living donor liver transplantation with sixth-decade donors: a propensity score matching study in a high-volume institution. *Annals Of Transplantation*, 23, 802-807. doi: 10.12659/aot.911550
- [9] Macshut, M., Kaido, T., Yao, S., Yagi, S., Ito, T., & Kamo, N. et al. (2019). Older Donor Age Is a Risk Factor for Negative Outcomes After Adult Living Donor Liver Transplantation Using Small-for-Size Grafts. *Liver Transplantation*, 25(10), 1524-1532. doi: 10.1002/lt.25601
- [10] Marubashi, S., Nagano, H., Eguchi, H., Wada, H., Asaoka, T., & Tomimaru, Y. et al. (2016). Minimum graft size calculated from preoperative recipient status in living donor liver transplantation. *Liver Transplantation*, 22(5), 599-606. doi: 10.1002/lt.24388
- [11] Nadalin, S., Capobianco, I., Panaro, F., Di Francesco, F., Troisi, R., & Sainz-Barriga M. et al. (2016). Living donor liver transplantation in Europe. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 5(2), 159-175. doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2015.10.04
- [12] Shen, Z., Gu, C., Zheng, H., Pan, C., Deng, Y., & Du, H. et al. (2019). A twenty-year review of clinical liver transplantation. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 31(3), 269-280. doi: 10.3760/cma.j.isn.2095-4352.2019.03.004 [in Chinese].
- [13] Shoreem, H., Gad, E., Soliman, H., Hegazy, O., Saleh, S., & Zakaria, H. et al. (2017). Small for size syndrome difficult dilemma: Lessons from 10 years single centre experience in living donor liver transplantation. *World Journal Of Hepatology*, 9(21), 930. doi: 10.4254/wjh.v9.i21.930
- [14] Siniscalchi, A., Gamberini, L., Laici, C., Bardi, T., Ercolani, G., Lorenzini, L., & Faenza, S. (2016). Post reperfusion syndrome during liver transplantation: From pathophysiology to therapy and preventive strategies. *World journal of gastroenterology*, 22(4), 1551-1569. doi: 10.3748/wjg.v22.i4.1551
- [15] Uchiyama, H., Shirabe, K., Kimura, K., Yoshizumi, T., Ikegami, T., Harimoto, N., & Maehara, Y. (2016). Outcomes of adult-to-adult living donor liver transplantation in 321 recipients. *Liver Transplantation*, 22(3), 305-315. doi: 10.1002/lt.24378
- [16] Umgelter, A., Hapfelmeier, A., Kopp, W., van Rosmalen, M., Rogiers, X., & Guba, M. (2017). Disparities in Eurotransplant liver transplantation wait-list outcome between patients with and without model for end-stage liver disease exceptions. *Liver Transplantation*, 23(10), 1256-1265. doi: 10.1002/lt.24805
- [17] Yesmembetov, K., Sultanaliyev, T., Mukazhanov, A., Zhexembayev, A., Kuttymuratov, G., & Spatayev, Z. et al. (2018). Prognosis of patients following liver transplant from deceased and living donors. *Experimental And Clinical Transplantation*, 16(1), suppl. 1, 152-153. doi: 10.6002/ect.TOND-TD2017.P42
- [18] Yi, P., Zhang, M., & Xu, M. (2015). Management of the middle hepatic vein in right lobe living donor liver transplantation: A meta-analysis. *Journal Of Huazhong University Of Science And Technology [Medical Sciences]*, 35(4), 600-605. doi: 10.1007/s11596-015-1477-3

## Аналіз зв'язку rs1899663-поліморфізму гена *HOTAIR* із розвитком раку сечового міхура в українській популяції

А. Д. Волкогон\*<sup>B</sup>, Я. Д. Чумаченко<sup>D</sup>, В. Ю. Гарбузова<sup>C,E</sup>, О. В. Атаман<sup>A,F</sup>

Сумський державний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

HOX antisense intergenic RNA (*HOTAIR*), що належить до класу довгих некодувальних РНК (днРНК), здійснює епігенетичну регуляцію експресії генів, причетних до клітинного поділу. Це дає підстави припустити: однонуклеотидні поліморфізми гена *HOTAIR* можуть впливати на розвиток пухлинних процесів, зокрема раку сечового міхура.

**Мета роботи** – проаналізувати зв'язок rs1899663-поліморфізму гена *HOTAIR* із виникненням раку сечового міхура та його здатністю до метастазування у представників української популяції.

**Матеріали та методи.** Для дослідження використали цільну венозну кров 241 особи (141 хворий на рак сечового міхура та 100 осіб групи контролю). Для генотипування застосована полімеразна ланцюгова реакція з аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP). Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою програмного забезпечення SPSS 17.0.

**Результати.** Встановлена відсутність зв'язку між rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* і виникненням раку сечового міхура як за даними бінарної логістичної регресії, так і після врахування поправок на вік, стать і звичку курити ( $P_{\text{спост}} > 0,05$  та  $P_{\text{попр}} > 0,05$  в усіх моделях спадкування).

Натомість показано, що ризик розвитку метастазування раку сечового міхура в носіїв ТТ-генотипу менший, ніж у носіїв G-алеля відповідно до рецесивної ( $P_{\text{спост}} = 0,047$ ;  $OR_{\text{спост}} = 0,334$ , 95 % CI = 0,113–0,986) моделі спадкування. До того ж, за даними адитивної моделі спадкування, ризик розвитку метастазування в осіб із ТТ-генотипом менший, ніж у гомозигот за основним алелем ( $P_{\text{спост}} = 0,04$ ;  $OR_{\text{спост}} = 0,301$ , CI = 0,096–0,944).

Але після застосування поправок на вік, стать, куріння та зловживання алкоголем статистично значущий зв'язок зник і в рецесивній ( $P_{\text{попр}} = 0,09$ ;  $OR_{\text{попр}} = 0,386$ , 95 % CI = 0,129–1,159), і в адитивній ( $P_{\text{попр}} = 0,076$ ;  $OR_{\text{попр}} = 0,348$ , CI = 0,108–1,118) моделі спадкування.

**Висновки.** Зв'язок між rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* і виникненням і метастазуванням раку сечового міхура в українській популяції відсутній.

### Ключові слова:

довгі некодувальні РНК, однонуклеотидний поліморфізм, HOX antisense intergenic RNA (*HOTAIR*), рак сечового міхура.

### Запорізький

медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 751–758

### DOI:

10.14739/2310-1210.2019.6.186498

### \*E-mail:

volkogon\_andrei@ukr.net

## Анализ связи rs1899663-полиморфизма гена *HOTAIR* с развитием рака мочевого пузыря в украинской популяции

А. Д. Волкогон, Я. Д. Чумаченко, В. Ю. Гарбузова, А. В. Атаман

HOX antisense intergenic RNA (*HOTAIR*), относящаяся к классу длинных некодирующих РНК (днРНК), осуществляет эпигенетическую регуляцию экспрессии генов, причастных к клеточному делению. Это позволяет предположить, что однонуклеотидные полиморфизмы гена *HOTAIR* могут оказывать влияние на развитие опухолевых процессов, в частности рака мочевого пузыря.

**Цель работы** – проанализировать связь rs1899663-полиморфизма гена *HOTAIR* с возникновением рака мочевого пузыря и его способностью к метастазированию у представителей украинской популяции.

**Материалы и методы.** Для исследования использована цельная венозная кровь 241 пациента (141 больной раком мочевого пузыря и 100 лиц группы контроля). Для генотипирования использовали полимеразную цепную реакцию с анализом длины рестрикционных фрагментов (PCR-RFLP). Статистическая обработка результатов проведена при помощи программного обеспечения SPSS 17.0.

**Результаты.** Установлено отсутствие связи между rs1899663-полиморфизмом гена *HOTAIR* и возникновением рака мочевого пузыря как по данным бинарной логистической регрессии, так и после применения поправок на возраст, пол и курение ( $P_{\text{набл}} > 0,05$  и  $P_{\text{набл}} > 0,05$  во всех моделях наследования).

Также показано, что риск развития метастазирования рака мочевого пузыря у носителей ТТ-генотипа меньше, чем у носителей G-аллеля в соответствии с рецессивной ( $P_{\text{набл}} = 0,047$ ;  $OR_{\text{набл}} = 0,334$ , 95 % CI = 0,113–0,986) моделью наследования. Более того, по данным аддитивной модели наследования, риск развития метастазирования у лиц с ТТ-генотипом меньше по сравнению с обладателями GG-генотипа ( $P_{\text{набл}} = 0,04$ ;  $OR_{\text{набл}} = 0,301$ , CI = 0,096–0,944).

Однако после применения поправок на возраст, пол, курение и злоупотребление алкоголем статистически значимая связь исчезла как в рецессивной ( $P_{\text{попр}} = 0,09$ ;  $OR_{\text{попр}} = 0,386$ , 95 % CI = 0,129–1,159), так и в аддитивной ( $P_{\text{попр}} = 0,076$ ;  $OR_{\text{попр}} = 0,348$ , CI = 0,108–1,118) моделях наследования.

**Выводы.** Связь между rs1899663-полиморфизмом гена *HOTAIR* и возникновением, а также метастазированием рака мочевого пузыря среди представителей украинской популяции отсутствует.

### Ключевые слова:

длинные некодирующие РНК, однонуклеотидный полиморфизм гена, HOX antisense intergenic RNA (*HOTAIR*), рак мочевого пузыря.

### Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 751–758

**Key words:**  
long noncoding RNAs, single nucleotide polymorphism, HOX antisense intergenic RNA (HOTAIR), cell bladder cancer.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 751–758

## Association analysis between rs1899663 HOTAIR gene polymorphism and bladder cancer development in Ukrainian population

A. D. Volkohon, Ya. D. Chumachenko, V. Yu. Harbuzova, O. V. Ataman

HOX antisense intergenic RNA (HOTAIR), the well-known long noncoding RNA (lncRNA), performs epigenetic regulation of cell cycle genes expression. Based on this fact it can be assumed that HOTAIR single nucleotide polymorphisms (SNPs) affect the development of different oncological processes, in particular, bladder cancer.

**The aim of the study:** to analyze the association between HOTAIR rs1899663 single nucleotide polymorphism and bladder cancer emergence as well as metastasis potential in Ukrainian population.

**Materials and methods.** Venous whole blood from 241 patients was used for genotyping. The studied group was formed from 141 patients with diagnosed bladder cancer and the control group was consisted of 100 healthy subjects. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLP) was used for genotyping. The statistical processing of obtained results was done by SPSS 17.0 software.

**Results.** There was no association between HOTAIR rs1899663 SNP and bladder cancer emergence according to the binary logistic regression analysis as well as after adjustment for age, sex and smoking ( $P_c > 0.05$  and  $P_a > 0.05$  for all hereditary models). In contrast, it was shown that the TT-genotype carriers have decreased risk of bladder cancer metastasis compared to G-allele carriers in the recessive ( $P_c = 0.047$ ;  $OR_c = 0.334$ , 95 % CI = 0.113–0.986) model. Moreover, TT-genotype carriers have decreased risk of bladder cancer metastasis in comparison with GG-genotype carriers according to the additive ( $P_c = 0.04$ ;  $OR_c = 0.301$ , CI = 0.096–0.944) model. But after the adjustment for age, sex, smoking and alcohol consumption, the statistically significant association was lost both in recessive ( $P_a = 0.09$ ;  $OR_a = 0.386$ ; 95 % CI = 0.129–1.159) and additive ( $P_a = 0.076$ ;  $OR_a = 0.348$ ; CI = 0.108–1.118) models.

**Conclusions.** There is no association between HOTAIR rs1899663 SNP and bladder cancer emergence as well as metastasis potential in Ukrainian population.

За даними Global Burden of Disease (GBD), злоякісні пухлини посідають друге місце серед причин смертності, поступаючи тільки захворюванням серцево-судинної системи. Загальна кількість зареєстрованих випадків раку у світі станом на 2015 рік становила 17,5 млн, а кількість померлих у результаті розвитку пухлинних процесів сягнула 8,7 млн осіб [1,2]. У структурі смертності серед онкологічних патологій рак сечового міхура посів 13 місце, а рівень захворюваності підвищився на 31 % за період 2005–2015 рр. [2]. Результати епідеміологічних досліджень вказують на необхідність розроблення методів своєчасної профілактики та ефективного лікування онкологічних хвороб, зокрема раку сечового міхура, що не можливо без детального вивчення причин і закономірностей розвитку пухлинних процесів.

Відомо, що сутністю канцерогенезу є безмежний і неконтрольований поділ клітини, яка зазнала пухлинної трансформації. Безпосередніми причинами перетворення нормальної клітини на ракову вважають мутації генів, що пов'язані з проходженням клітинного поділу, або порушення регуляції їхньої експресії [3]. Активність генів залежить від стану їхніх регуляторних ділянок і ступеня конденсації хроматину, тобто контролюється за допомогою епігенетичних механізмів (наприклад, ацетилювання чи деацетилювання гістонових білків, метилювання та деметилювання CpG-острівців промоторних ділянок генів) [4,5]. Важлива роль у здійсненні таких хімічних модифікацій належить довгим некодувальним РНК (днРНК). Цей клас РНК об'єднує транскрипти з довжиною, понад 200 нуклеотидів, що не мають відкритої рамки читування суттєвого розміру [6,7]. Нині однією з найбільш досліджуваних є HOX antisense intergenic RNA (HOTAIR) – міжгенна антизмістовна днРНК, що бере участь у регуляції експресії багатьох генів на епігенетичному та транскрипційному рівнях. Ген HOTAIR входить до складу генного кластера Homeobox C (HOXC), а його кодувальний ланцюг є частиною мінус-ланцюга довгого

плеча хромосоми 12q13.13 [8]. Відомо, що HOTAIR зв'язується із PRC2 та LSD1 і транспортує ці білкові комплекси до певних генетичних локусів (наприклад, HOXD10, PTEN, RBM38, MMPs) [9]. У результаті HOTAIR-опосередкованого метилювання лізинових залишків Lys-27 (H3K27) і деметилювання Lys-4 (H3K4) у складі гістонів H3 відбувається зниження експресії генів, що причетні до здійснення клітинного поділу [10]. Саме тому зусилля багатьох вчених сьогодні спрямовані на дослідження ролі HOTAIR у розвитку пухлинної трансформації клітин.

Є чимало праць, що присвячені визначенню активності гена HOTAIR у пухлинних зразках. Зокрема, Yu et al. [11] узагальнили результати, що свідчать про підвищення експресії цього гена при різних типах пухлин, серед них рак молочної залози, стравоходу, легень, шлунка, печінки, гортані, підшлункової залози, гліоми та саркоми. HOTAIR унаслідок активації генетичних механізмів епітеліально-мезенхімального переходу збільшує інвазивність і рухливість пухлинних клітин, що призводить до утворення віддалених метастатичних вогнищ. Martínez-Fernández et al [12] з'ясували, що підвищення рівня експресії HOTAIR у тканинах пухлин сечового міхура, що рецидивують, пов'язане з гіршим прогнозом щодо виживання. Yu et al. [13] довели HOTAIR-залежний онкогенний ефект білка HuR, який здатен зв'язуватися з AU-повторами молекул РНК. Пригнічення експресії HuR/HOTAIR у ракових клітинах сечового міхура призводило до зниження їхньої інвазивності, проліфераційної та міграційної активності з одночасною стимуляцією апоптозу. Sun et al. [14] встановили HOTAIR-опосередковане зниження експресії miR-205 у пухлинних тканинах сечового міхура внаслідок метилювання H3K27 і деметилювання H3K4 промоторної ділянки гена цієї мікроРНК. Виявилось, що miR-205 пригнічує активність CCNJ, який кодує циклін J – важливий регулятор клітинного циклу, необхідний для G2/M-переходу. Відповідно, надлишкова експресія HOTAIR у ракових клітинах сечового міхура

призводить до підвищення активності *CCNJ* і, як наслідок, посиленої проліферації пухлини.

Отже, встановлення молекулярних механізмів *HOTAIR*-опосередкованого канцерогенезу триває, хоча нині накопичено доволі багато інформації щодо порушеного питання. Однак варто відзначити, що причини підвищення експресії цієї днРНК у пухлинних клітинах є менш дослідженими. Тому один із найперспективніших сучасних напрямів молекулярної генетики стосується вивчення функціонального значення одонуклеотидних поліморфізмів генів, а також їхнього зв'язку з розвитком, перебігом пухлинних процесів.

## Мета роботи

Аналіз зв'язку rs1899663-поліморфних варіантів гена *HOTAIR* із виникненням раку сечового міхура та його здатності до метастазування у представників української популяції.

## Матеріали і методи дослідження

**Характеристика груп порівняння.** У дослідження залучили 241 особу, котрих поділили на дослідну групу, представники якої мали рак сечового міхура (27 жінок і 114 чоловіків; середній вік [±SD] – 62,88 ± 12,91 року) та групу контролю (34 жінки і 66 чоловіків; середній вік – 77,38 ± 8,49 року). Діагностику онкологічної патології та ведення пацієнтів здійснили в Сумському обласному клінічному онкологічному диспансері з 2005 до 2016 р. Остаточний морфологічний діагноз перехідно-клітинного раку сечового міхура (ПКРСМ) встановлений відповідно до міжнародних критеріїв European Association of Urology Guidelines. Усі пацієнти мали клінічну стадію II пухлинного процесу за TNM-класифікацією злоякісних пухлин. Загальні клінічні характеристики онкологічних хворих і представників контрольної групи наведені в таблиці 1. Середній вік контрольних осіб вірогідно вищий за такий для досліджуваної групи. Цей факт підвищує надійність контролю, адже ймовірність розвитку пухлинної патології на наступних етапах життя його представників зменшується. Основні клінічні характеристики груп порівняння, що були сформовані для вивчення метастатичного потенціалу пухлин, наведені в таблиці 2. Протокол дослідження затверджений Комітетом з етики Медичного інституту СумДУ (№3/05.12.11) та відповідає основним положенням Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації. Усі пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

**Генотипування.** Для дослідження використовували цільну венозну кров пацієнтів, взяту у стерильних умовах у моновети об'ємом 2,4 мл із калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти («Sarstedt», ФРН) як антикоагулянт. Виділення ДНК виконали за стандартним протоколом, використовуючи GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, USA). Для генотипування пацієнтів за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* застосована полімеразна ланцюгова реакція з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP). На етапі ампліфікації реакційна суміш складалася з 5 мМ DreamTaq™ Green Buffer (10X) (Thermo Fisher Scientific,

**Таблиця 1.** Клінічні характеристики хворих на ПКРСМ та осіб контрольної групи

Показник	ПКРСМ (n = 141)	Контроль (n = 100)	p
Вік, роки ± SD	62,88 ± 12,91	77,38 ± 8,49	< 0,001
Стать, ж/ч	27/114	34/66	0,009
Курці, n (%)	70 (49,6)	27 (27,0)	< 0,001

**ПКРСМ:** перехідноклітинний рак сечового міхура; **n:** кількість осіб; **ж:** жінки; **ч:** чоловіки; **p:** показник статистичної значущості; порівняння категоріальних змінних виконали за допомогою  $\chi^2$ -тесту, кількісних змінних – за допомогою t-тесту.

**Таблиця 2.** Клінічні характеристики хворих на ПКРСМ із метастазуванням пухлини та без нього

Показник	Метастази (n = 68)	Немає метастазів (n = 73)	p
Вік, роки ± SD	64,41 ± 13,06	61,45 ± 12,69	0,175
Стать, ж/ч	14/54	13/60	0,675
Курці, n (%)	34 (50,0)	36 (49,3)	0,935
Алкоголь	42 (61,8)	58 (79,5)	0,021

**ПКРСМ:** перехідноклітинний рак сечового міхура; **n:** кількість осіб; **ж:** жінки; **ч:** чоловіки; **p:** показник статистичної значущості; порівняння категоріальних змінних виконали за допомогою  $\chi^2$ -тесту, кількісних змінних – за допомогою t-тесту.

USA), 0,5 мМ dNTP (Thermo Fisher Scientific, USA), 0,1 мМ кожного праймера, 1 U Taq-полімерази (Thermo Fisher Scientific, USA), 75–100 нг ДНК і деіонізованої води (загальний об'єм 25 мкл). Полімеразну ланцюгову реакцію здійснили за допомогою ампліфікатора Thermocycler GeneAmp PCR System 2700 (Thermo Fisher Scientific, USA), температурний режим наведений у таблиці 3. На етапі рестрикції до 6 мкл ампліфікату додавали 2 мкл ендонуклеази рестрикції *BseG1* у буферному розчині Buffer Tango (Thermo Fisher Scientific, USA). Зразки інкубували в термостаті за температури 37 °C протягом 20 год.

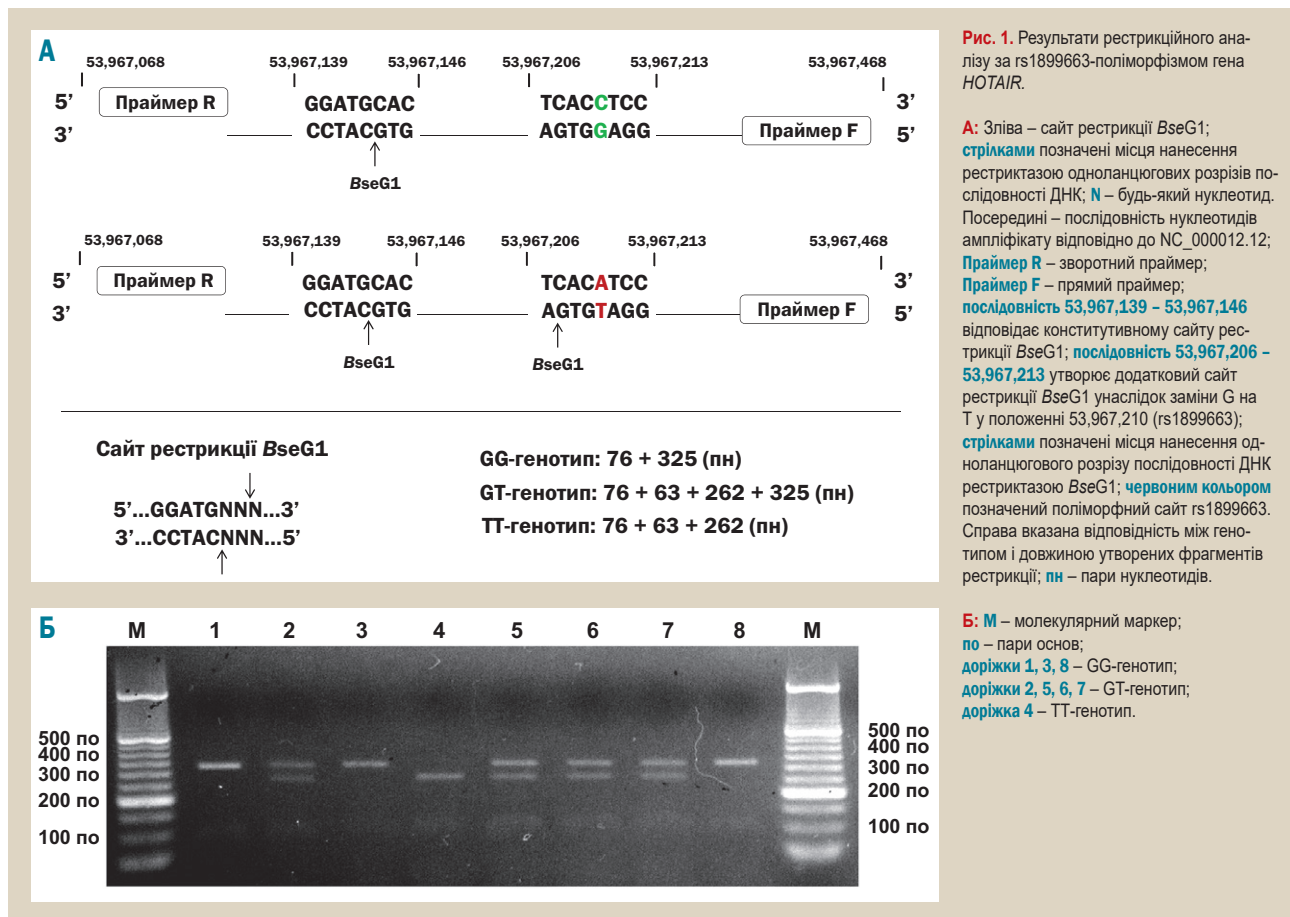
Праймери підібрані так, щоб обмежити послідовність ДНК завдовжки 401 пн, що містить rs1899663-поліморфний сайт. Однак ампліфікат унаслідок наявності конститутивного сайту рестрикції під дією ендонуклеази *BseG1* розрізався на 2 фрагменти – 76 пн і 325 пн. Унаслідок трансверсії G→T у положенні 4093 (rs1899663-поліморфізм) гена *HOTAIR* (NC\_000012.12) утворюється додатковий сайт рестрикції *BseG1*. Поряд з утворенням фрагмента з 76 пн, фрагмент довжиною 325 пн розрізається на 2 додаткових – 63 пн і 262 пн. За наявності в ампліфікаті G-алеля утворюється тільки два фрагменти – 76 пн і 325 пн (рис. 1А). Для розділення продуктів рестрикції застосовували горизонтальний електрофорез (10 V/cm) у 2,5 % агарозному гелі з додаванням розчину бромистого етидію (10 мг/мл). Дискримінація генотипів за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* виконана за допомогою транслюмінатора («Биоком», РФ). Результати рестрикційного аналізу наведені на рис. 1Б.

**Статистичний аналіз.** Більшість статистичних розрахунків здійснені за допомогою програмного забезпечення SPSS 17.0 (Chicago, IL, USA). Категоріальні змінні наведені як абсолютні та відсоткові значення; безперервні дані наведені як середні значення ± SD (нормальність розподілу даних підтверджувалася за допомогою тесту Шапіро–Уїлка). Для порівняння середніх значень застосовували двосторонній t-тест Стьюдента. Відповідність розподілу частот алелів у контрольній групі перевіряли за допомогою програмного забезпечення Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology Studies (<http://www.oege.org/software/hardy-weinberg.html>). Для порівняння частот алелів і генотипів, а також інших

Таблиця 3. Умови ампліфікації для rs1899663-поліморфізму гена *HOTAIR*

Праймери	Етапи ампліфікації			Довжина ампліфікату
Прямий: 5'TGAAAGCCAGGATCATTTAACA3'	Денатурація	Гібридація	Елонгація	401 пн
Зворотний: 5'GGGCTCATGGAGACATTTAAG3'	94 °C – 45 с	59 °C – 45 с	72 °C – 45 с	

пн: пари нуклеотидів.



категоріальних змінних застосовували  $\chi^2$ -тест. Зв'язок генотипів із розвитком раку сечового міхура та метастазуванням пухлини аналізували за допомогою бінарної логістичної регресії. Визначали відношення шансів (OR) і 95 % довірчий інтервал (95 % CI) в домінантній (носії мінорного алеля проти домінантних гомозигот), рецесивній (гомозиготи за мінорним алелем проти носіїв домінантного алеля), наддомінантній (гетерозиготи проти гомозигот) та адитивній (гетерозиготи та гомозиготи за рецесивним алелем проти гомозигот за основним алелем) моделях спадкування. Застосування мультиваріабельної логістичної регресії дало змогу зробити поправки на інші фактори ризику – вік, стать, звичку курити та зловживати алкоголем. Усі тести були двобічними. Значення  $p > 0,05$  вважали статистично значущим.

### Результати

Основні клінічні характеристики хворих на ПКРСМ і представників контрольної групи наведені в таблиці 1. Особи контрольної групи виявилися значно старшими за пацієнтів з онкологічною патологією ( $p < 0,001$ ). Натомість серед хворих на ПКРСМ кількість курців виявилася

значущо більшою, ніж серед здорових осіб ( $p < 0,001$ ). Встановили статистично вірогідні відмінності розподілу представників груп порівняння за статтю ( $p = 0,009$ ).

У таблиці 4 узагальнені результати порівняння частот алелів і генотипів за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* серед пацієнтів із ПКРСМ та осіб контрольної групи. Встановили, що частоти алелів у групі контролю відповідають рівновазі Харді-Вайнберга ( $p_{HWE} = 0,862$ ). Статистично значущі відмінності розподілу як алелів ( $p = 0,296$ ), так і генотипів ( $p = 0,55$ ) між групами порівняння не встановили.

Результати аналізу зв'язку генотипів за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* із розвитком ПКРСМ наведені в таблиці 5. Статистично значущі результати як за даними бінарної логістичної регресії, так і після врахування поправок на вік, стать і звичку курити не встановили ( $p_{сност} > 0,05$  та  $p_{пор} > 0,05$  в усіх моделях спадкування).

Для дослідження зв'язку між генотипами за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* і метастатичним потенціалом ПКРСМ онкологічну групу поділили на 2: в першу ввійшли пацієнти з метастатичними вогнищами, у другу – особи без метастазів. Клінічні характеристики груп порівняння узагальнені в таблиці 2. Виявилось,



що серед пацієнтів без метастазів кількість хворих, які зловживають алкоголем, статистично більша, ніж серед осіб із метастазами ( $p = 0,021$ ). Відмінності за віком, статтю пацієнтів і кількістю курців не визначили ( $p > 0,05$ ).

У таблиці 6 наведені результати порівняння частот алелів і генотипів за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* серед осіб із метастазами та без них. Не встановили статистично значущі відмінності за розподілом як алелів ( $p = 0,055$ ), так і генотипів ( $p = 0,104$ ).

Результати аналізу зв'язку rs1899663-поліморфізму гена *HOTAIR* із розвитком метастазування ПКРМ наведені в таблиці 7. Встановили, що ризик розвитку метастазування в носіїв ТТ-генотипу менший, ніж у носіїв G-алеля ( $p_{\text{спост}} = 0,047$ ;  $OR_{\text{спост}} = 0,334$ , 95 % CI = 0,113–0,986) відповідно до рецесивної моделі спадкування. За даними адитивної моделі, ризик розвитку метастазування ПКРМ в осіб із ТТ-генотипом менший, ніж у гомозигот за основним алелем ( $p_{\text{спост}} = 0,04$ ;  $OR_{\text{спост}} = 0,301$ , CI = 0,096–0,944). Однак після застосування поправок на вік, стать, куріння та зловживання алкоголем статистично значущий зв'язок зник як у рецесивній ( $p_{\text{попр}} = 0,09$ ;  $OR_{\text{попр}} = 0,386$ , 95 % CI = 0,129–1,159), так і в адитивній ( $p_{\text{попр}} = 0,076$ ;  $OR_{\text{попр}} = 0,348$ , CI = 0,108–1,118) моделях спадкування.

## Обговорення

Ген *HOTAIR* має довжину 12,649 пн, його кодувальний ланцюг входить до складу мінус-ланцюга довгого плеча 12q13.13 хромосоми (NC\_000012.12). За даними GRCh38.p7 (Genome Reference Consortium Human Build 38 patch release 12), трасверсія G→T (rs1899663) локалізується на мінус-ланцюгу хромосоми в положенні 53,967,210. Відзначимо, що референсна послідовність NC\_000012.12 відповідає 5'-3'-послідовності нуклеотидів некодувального ланцюга гена *HOTAIR* (і, відповідно, частині послідовності змістовного ланцюга гена *HOXC11*), тому в деяких джерелах поліморфний варіант rs1899663 розглядають як заміну C→A на плюс-ланцюга хромосоми.

У результаті дослідження встановили такі частоти мінорного Т-алеля: у представників контрольної групи – 0,405; у групі пацієнтів із ПКРМ – 0,358; у хворих, які мають метастази пухлини, – 0,301; у групі без метастазів – 0,411. Частоти алелів у групі контролю відповідають рівновазі Харді–Вайнберга, а статистично вірогідні відмінності за розподілом алелів і генотипів між групами порівняння не встановили. За даними The 1000 Genomes Project (phase 3), частота мінорного А-алеля за rs1899663-поліморфізмом у загальній популяції становить 0,254, серед африканців – 0,179, в американській популяції – 0,362, серед населення Східної Азії – 0,205, серед представників південної Азії – 0,314, серед європейців – 0,268. Найбільш зіставна з контрольною групою частота мінорного алеля виявлена у популяції колумбійців (Медельїн) – 0,409, перуанців (Ліма) – 0,4, мексиканців (Лос-Анджелес) – 0,383 [15]. Результати свідчать про наявність етнічних особливостей у розподілі rs1899663-поліморфних варіантів гена *HOTAIR*. Однак нині це перші дані щодо частоти мінорного Т-алеля серед хворих на рак сечового міхура як для української, так і світової популяції.

**Таблиця 4.** Розподіл алелів і генотипів за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* серед хворих на ПКРМ та осіб групи контролю

Генотипи	ПКРМ (n = 141)		Контроль (n = 100)		$p_{\text{HWE}}$	p
	n	%	n	%		
GG	59	41,8	35	35,0	–	0,550
GT	63	44,7	49	49,0		
TT	19	13,5	16	16,0		
Алелі						
G	181	64,2	119	59,5	0,862	0,296
T	101	35,8	81	40,5		

**ПКРМ:** перехідноклітинний рак сечового міхура; **n:** кількість осіб;  **$p_{\text{HWE}}$ :** показник відхилення частот алелів від рівноваги Харді–Вайнберга; **p:** показник статистичної значущості.

**Таблиця 5.** Аналіз зв'язку rs1899663-поліморфних варіантів гена *HOTAIR* із розвитком ПКРМ

Модель	$p_{\text{спост}}$	$OR_{\text{спост}}$ (95 % CI)	$p_{\text{попр}}$	$OR_{\text{попр}}$ (95 % CI)
Домінантна	0,284	0,748 (0,441 – 1,271)	0,334	0,764 (0,442 – 1,319)
Рецесивна	0,584	0,818 (0,398 – 1,681)	0,607	0,823 (0,391 – 1,731)
Наддомінантна	0,508	0,841 (0,503 – 1,405)	0,561	0,855 (0,503 – 1,452)
Аддитивна <sup>a</sup>	0,382	0,704 (0,321 – 1,545)	0,421	0,717 (0,319 – 1,613)
	0,344	0,763 (0,435 – 1,336)	0,397	0,779 (0,437 – 1,388)

**ПКРМ:** перехідноклітинний рак сечового міхура;  **$p_{\text{спост}}$ :** значення p без поправки на коваріати;  **$OR_{\text{спост}}$ :** відношення шансів;  **$p_{\text{попр}}$ :** значення p після поправки на вік, стать і звичку палити;  **$OR_{\text{попр}}$ :** відношення шансів після поправки на коваріати; **95 % CI:** 95 % довірчий інтервал; верхній рядок показує результати порівняння ТТ-генотипу з GG-генотипом, а нижній – GT-генотипу з GG-генотипом.

**Таблиця 6.** Розподіл алелів і генотипів за rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* серед хворих на ПКРМ із метастазуванням і без нього

Генотипи	З метастазами (n = 68)		Без метастазів (n = 73)		p
	n	%	n	%	
GG	32	47,1	27	37	0,104
GT	31	45,6	32	43,8	
TT	5	7,4	14	19,2	
Алелі					
G	95	69,9	86	58,9	0,055
T	41	30,1	60	41,1	

**ПКРМ:** перехідноклітинний рак сечового міхура; **n:** кількість осіб; **p:** показник статистичної значущості.

**Таблиця 7.** Аналіз зв'язку rs1899663-поліморфізму гена *HOTAIR* із розвитком метастазування ПКРМ

Модель	$p_{\text{спост}}$	$OR_{\text{спост}}$ (95 % CI)	$p_{\text{попр}}$	$OR_{\text{попр}}$ (95 % CI)
Домінантна	0,227	0,66 (0,337 – 1,294)	0,283	0,68 (0,336 – 1,375)
Рецесивна	0,047	0,334 (0,113 – 0,986)	0,09	0,386 (0,129 – 1,159)
Наддомінантна	0,834	1,073 (0,552 – 2,086)	0,884	1,053 (0,526 – 2,109)
Аддитивна <sup>a</sup>	0,04	0,301 (0,096 – 0,944)	0,076	0,348 (0,108 – 1,118)
	0,579	0,817 (0,401 – 1,665)	0,602	0,82 (0,39 – 1,727)

**ПКРМ:** перехідноклітинний рак сечового міхура;  **$p_{\text{спост}}$ :** значення p без поправки на коваріати;  **$OR_{\text{спост}}$ :** відношення шансів;  **$p_{\text{попр}}$ :** значення p після поправки на вік, стать, звичку палити та зловживання алкоголем;  **$OR_{\text{попр}}$ :** відношення шансів після поправки на коваріати; **95 % CI:** 95 % довірчий інтервал; верхній рядок показує результати порівняння ТТ-генотипу з GG-генотипом, а нижній – GT-генотипу з GG-генотипом.

Поліморфний варіант rs1899663 гена *HOTAIR* локалізується в інтроні (положення 4903 за даними NC\_000012.12). Відомо 3 транскрипційні варіанти *HOTAIR*, що утворюються внаслідок альтернативного сплайсингу. Серед них транскрипційний варіант 2 (NR\_003716.3), довжиною 2364 нуклеотиди, є найбільш

дослідженням. Встановлено, що rs1899663-поліморфізм знаходиться у другому інтроні (3'-кінець попереднього екзону 2 закінчується нуклеотидом 266, рахуючи від сайту ініціації транскрипції) та має порядковий номер 59 (відлік проводиться від першого нуклеотиду 5'-кінця інтрона 2), що позначається 266+59G>T (NR\_003716.3). Gong et al [16] з'ясували: трансверсія G→T (rs1899663) призводить до зміни мінімальної вільної енергії ( $\Delta G$ ) на 7,8 ккал/моль у центральній ділянці HOTAIR, що може впливати на вторинну структуру молекули. У подальшому Taheri et al встановили, що заміна G на T (rs1899663) змінює спорідненість HOTAIR до транскрипційних факторів HNF4, PPAR та RXRA, що пов'язані з прогресією та рецидивуванням багатьох пухлин, зокрема раку сечового міхура [17–19].

Велика кількість досліджень спрямована на з'ясування ролі поліморфних варіантів гена *HOTAIR* у розвитку пухлинних процесів. Min et al [20] здійснили метааналіз 18 джерел фахової літератури, відповідно до якого носії ТТ-генотипу за rs12826786 і rs920778 поліморфними варіантами гена *HOTAIR* мають підвищений ризик виникнення ракових захворювань порівняно з носіями основного С-алеля. Жодних статистично значущих результатів для rs7958904, rs4759314, rs874945 і rs1899663 однонуклеотидних поліморфізмів не виявили. Метааналіз 48 досліджень, що здійснений Li et al [21], підтверджує наведені дані: дослідники виявили значущий зв'язок між rs920778 і rs12826786 поліморфізмами гена *HOTAIR* і пухлинною трансформацією клітин, однак для rs1899663, rs874945 і rs4759314 поліморфізмів таку закономірність не встановили. Ризик виникнення онкологічних захворювань травної системи в носіїв мінорного С-алеля за rs7958904-поліморфізмом гена *HOTAIR* виявився нижчим порівняно з носіями основного G-алеля у представників китайської популяції.

Слід відзначити, що результати більшості наукових пошуків стосуються дослідження впливу rs1899663-поліморфних варіантів гена *HOTAIR* на пухлинну трансформацію тканин, що чутливі до впливу статевих гормонів. Taheri et al [17] встановили, що носії Т-алеля за rs1899663-поліморфізмом мають підвищений ризик розвитку доброякісної гіперплазії передміхурової залози в іранській популяції. До того ж такі особи мають більшу схильність до ракового переродження гіперплазованих клітин надалі. Hassanzarei et al [22] дійшли до висновку: носії Т-алеля за rs1899663-поліморфізмом мають знижений ризик виникнення раку молочної залози серед представників південно-східного регіону Ірану. Зіставні результати отримали дослідники Yan et al [23] для китайської популяції, встановивши протективний ефект Т-алеля в розвитку раку молочної залози серед жінок із віком настання менархе понад 14 років і більш ніж двома вагітностями. Натомість Weng et al [24] показали відсутність зв'язку між rs1899663-поліморфними варіантами та виникненням цервікальної інтраепітеліальної неоплазії в азіатських жінок, а Guo et al [25] не виявили статистично значущі відмінності за розподілом генотипів за rs1899663-поліморфізмом між хворими на рак шийки матки та особами групи контролю серед представників китайської популяції.

Інша група сучасних досліджень спрямована на встановлення ролі rs1899663-поліморфізму гена

*HOTAIR* у розвитку пухлин травної системи. Так, Li et al [26] не встановили статистично вірогідний зв'язок між rs1899663-поліморфізмом і виникненням гепатоцелюлярної карциноми в китайського населення. Su et al [27] встановили підвищений ризик розвитку плоскоклітинного раку ротової порожнини у носіїв ТТ-генотипу за rs1899663-поліморфізмом після врахування поправок на куріння, жування бетеля та зловживання алкоголем серед представників Східно-Азійського регіону. До того ж виявлена закономірність зберігалася під час порівняння групи хворих, які не використовують бетель, і контрольних осіб із поправками на куріння та зловживання алкоголем.

Деякі наукові робіт присвячені аналізу зв'язку між rs1899663-поліморфними варіантами та виникненням пухлин дихальної та нервової систем. Так, Wang et al [28] встановили, що носії ТТ-генотипу мають вищий ризик розвитку раку легень порівняно з носіями GG-генотипу в китайській популяції. Gong et al [16] повідомляють про більшу чутливість до хіміотерапії в китайських пацієнтів із раком легень, що мають Т-алель. Yang et al [29] знайшли статистично значущий зв'язок між наявністю АА-генотипу за rs1899663-поліморфізмом і підвищеним ризиком розвитку нейроblastоми в дітей китайської популяції. Після стратифікаційного аналізу науковці встановили, що отримана закономірність виявляється у групі жінок, а також серед пацієнтів із первинною локалізацією пухлини в заочеревинному просторі чи середостінні.

Отже, вплив rs1899663-поліморфізму на розвиток онкологічної патології значуще відрізняється в різних етнічних групах. Результати здійсненого дослідження свідчать про відсутність зв'язку між rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* і розвитком ПКРСМ в українській популяції. Встановили, що носії ТТ-генотипу мають вищий ризик метастазування пухлини порівняно з носіями G-алеля. Проте після внесення в рівняння логістичної регресії поправок на вік, стать, куріння та зловживання алкоголем виявлений зв'язок втратив статистичну значущість. Це свідчить про наявність поряд із генотипом важливіших предикторів метастатичного потенціалу пухлини.

Подібне дослідження щодо зв'язку між rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* і розвитком ПКРСМ у світі не здійснювали, а результати, що одержали, є першими для української популяції.

## Висновки

1. Уперше встановили розподіл алелів за rs1899663-поліморфним сайтом гена *HOTAIR* у представників української популяції.
2. В українській популяції відсутній зв'язок між rs1899663-поліморфізмом гена *HOTAIR* і виникненням раку сечового міхура.
3. Поліморфний локус rs1899663 гена *HOTAIR* не впливає на розвиток метастазування в українських пацієнтів із раком сечового міхура.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 05.03.2019

Після доопрацювання / Revised: 11.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 24.04.2019

### Відомості про авторів:

Волкогон А. Д., канд. мед. наук, асистент каф. хірургії та онкології медичного інституту, Сумський державний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-0835-0657

Чумаченко Я. Д., лаборант наукової лабораторії молекулярно-генетичних досліджень, Сумський державний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-4803-5435

Гарбузова В. Ю., д-р біол. наук, професор каф. фізіології та патофізіології з курсом медичної біології медичного інституту, зав. наукової лабораторії молекулярно-генетичних досліджень, Сумський державний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7183-6997

Атаман О. В., д-р мед. наук, професор каф. фізіології та патофізіології з курсом медичної біології медичного інституту, Сумський державний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-1941-740X

### Сведения об авторах:

Волкогон А. Д., канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии и онкологии медицинского института, Сумский государственный университет, Украина.

Чумаченко Я. Д., лаборант Научной лаборатории молекулярно-генетических исследований, Сумский государственный университет, Украина.

Гарбузова В. Ю., д-р биол. наук, профессор каф. физиологии и патофизиологии с курсом медицинской биологии медицинского института СумГУ, зав. научной лабораторией молекулярно-генетических исследований, Сумский государственный университет, Украина.

Атаман А. В., д-р мед. наук, профессор каф. физиологии и патофизиологии с курсом медицинской биологии медицинского института, Сумский государственный университет, Украина.

### Information about authors:

Volkohon A. D., MD, PhD, Assistant of the Surgery and Oncology Department, Medical Institute, Sumy State University, Ukraine.

Chumachenko Ya. D., Laboratory Assistant of the Scientific Laboratory of Molecular Genetic Studies, Sumy State University, Ukraine.

Harbuzova V. Yu., PhD, DSc, Professor of the Physiology and Pathophysiology Department with Medical Biology Course of Medical Institute of Sumy State University, Head of Scientific Laboratory of Molecular Genetic Research, Sumy State University, Ukraine.

Ataman O. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Physiology and Pathophysiology Department with Medical Biology Course of Medical Institute, Sumy State University, Ukraine.

### Список літератури

- [1] Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study / Vos T. et al. *The Lancet*. 2016. Vol. 388. Issue 10053. P. 1545-1602. doi: 10.1016/s0140-6736(16)31678-6
- [2] Global Burden of Disease Cancer Collaboration. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncology*. 2017. Vol. 3. Issue 4. P. 524-548. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.5688
- [3] Motofei I. Biology of Cancer; From Cellular Cancerogenesis to Supracellular Evolution of Malignant Phenotype. *Cancer Investigation*. 2018. Vol. 36. Issue 5. P. 309-317. doi: 10.1080/07357907.2018.1477955
- [4] Dawson M., Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*. 2012. Vol. 150. Issue 1. P. 12-27. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.013
- [5] Li E., Zhang Y. DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harbor Perspectives In Biology*. 2014. Vol. 6. Issue 5. a019133. doi: 10.1101/cshperspect.a019133

- [6] Long noncoding RNA in prostate, bladder, and kidney cancer / E. S. Martens-Uzunova et al. *European Urology*. 2014. Vol. 65. Issue 6. P. 1140-1151. doi: 10.1016/j.eururo.2013.12.003
- [7] Computational approaches towards understanding human long non-coding RNA biology / S. Jalali, et al. *Bioinformatics*. 2015. Vol. 31. Issue 14. P. 2241-2251. doi: 10.1093/bioinformatics/btv148
- [8] Hajjari M., Salavaty A. HOTAIR: an oncogenic long non-coding RNA in different cancers. *Cancer Biology & Medicine*. 2015. Vol. 12. Issue 1. P. 1-9. doi: 10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0006
- [9] HOTAIR: a key regulator in gynecologic cancers / J. Li et al. *Cancer Cell International*. 2017. Vol. 17. Issue 65. doi: 10.1186/s12935-017-0434-6
- [10] HOTAIR: a cancer-related long non-coding RNA / B. Cai et al. *Neoplasma*. 2014. Vol. 61. Issue 4. P. 379-391. doi: 10.4149/neo\_2014\_075
- [11] Yu X., Li Z. Long non-coding RNA HOTAIR: A novel oncogene (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2015. Vol. 12. Issue 4. P. 5611-5618. doi: 10.3892/mmr.2015.4161
- [12] Analysis of the Polycomb-related lncRNAs HOTAIR and ANRIL in bladder cancer / M. Martínez-Fernández et al. *Clinical Epigenetics*. 2015. Vol. 7. Issue 109. doi: 10.1186/s13148-015-0141-x
- [13] Yu D., Zhang C., Gui J. RNA-binding protein HuR promotes bladder cancer progression by competitively binding to the long noncoding HOTAIR with miR-1. *Oncotargets And Therapy*. 2017. Vol. 10. P. 2609-2619. doi: 10.2147/ott.s132728
- [14] Long non-coding RNA HOTAIR regulates cyclin J via inhibition of microRNA-205 expression in bladder cancer / X. Sun et al. *Cell Death & Disease*. 2015. Vol. 6. e1907. doi: 10.1038/cddis.2015.269
- [15] A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015. Vol. 526. P. 68-74. doi: 10.1038/nature15393
- [16] Association of well-characterized lung cancer lncRNA polymorphisms with lung cancer susceptibility and platinum-based chemotherapy response / W. Gong et al. *Tumor Biology*. 2016. Vol. 37. Issue 6. P. 8349-8358. doi: 10.1007/s13277-015-4497-5
- [17] HOTAIR genetic variants are associated with prostate cancer and benign prostate hyperplasia in an Iranian population / M. Taheri et al. *Gene*. 2017. Vol. 613. P. 20-24. doi: 10.1016/j.gene.2017.02.031
- [18] Evasion of immunosurveillance by genomic alterations of PPARγ/RXRα in bladder cancer / M. Korpál et al. *Nature Communications*. 2017. Vol. 8. Issue. 103. doi: 10.1038/s41467-017-00147-w
- [19] Orphan nuclear receptor HNF4G promotes bladder cancer growth and invasion through the regulation of the hyaluronan synthase 2 gene / T. Okegawa et al. *Oncogenesis*. 2013. Vol. 2. e58. doi: 10.1038/oncsis.2013.25
- [20] The association between HOTAIR polymorphisms and cancer susceptibility: an updated systemic review and meta-analysis / L. Min et al. *Oncotargets And Therapy*. 2018. Vol. 11. P. 791-800. doi: 10.2147/ott.s151454
- [21] Long non-coding RNA HOTAIR polymorphism and susceptibility to cancer: an updated meta-analysis / J. Li et al. *Environmental Health And Preventive Medicine*. 2018. Vol. 23. Issue 8. doi: 10.1186/s12199-018-0697-0
- [22] Genetic polymorphisms of HOTAIR gene are associated with the risk of breast cancer in a sample of southeast Iranian population / S. Hassanzarei et al. *Tumor Biology*. 2017. Vol. 39. Issue 10. P. 1-8. doi: 10.1177/101042831772539
- [23] Polymorphisms in lncRNA HOTAIR and susceptibility to breast cancer in a Chinese population / R. Yan et al. *Cancer Epidemiology*. 2015. Vol. 39. Issue 6. P. 978-985. doi: 10.1016/j.canep.2015.10.025
- [24] Significant association of long non-coding RNAs HOTAIR genetic polymorphisms with cancer recurrence and patient survival in patients with uterine cervical cancer / S. Weng et al. *International Journal Of Medical Sciences*. 2018. Vol. 15. Issue 12. P. 1312-1319. doi: 10.7150/ijms.27505
- [25] Association of Long Non-Coding RNA HOTAIR Polymorphisms with Cervical Cancer Risk in a Chinese Population / L. Guo et al. *PLoS One*. 2016. Vol. 11. Issue 7. e0160039. doi: 10.1371/journal.pone.0160039
- [26] Association of Functional Genetic Variants of HOTAIR with Hepatocellular Carcinoma (HCC) Susceptibility in a Chinese Population / H. Li et al. *Cellular Physiology And Biochemistry*. 2017. Vol. 44. Issue 2. P. 447-454. doi: 10.1159/000485011
- [27] Impact of HOTAIR Gene Polymorphism and Environmental Risk on Oral Cancer / S. Su et al. *Journal Of Dental Research*. 2018. Vol. 97. Issue 6. P. 717-724. doi: 10.1177/0022034517749451
- [28] HOTAIR lncRNA SNPs rs920778 and rs1899663 are associated with smoking, male gender, and squamous cell carcinoma in a Chinese lung cancer population / C. Wang et al. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2018. Vol. 39. Issue 11. P. 1797-1803. doi: 10.1038/s41401-018-0083-x
- [29] HOTAIR gene polymorphisms contribute to increased neuroblastoma susceptibility in Chinese children / X. Yang et al. *Cancer*. 2018. Vol. 124. Issue 12. P. 2599-2606. doi: 10.1002/cncr.31353

### References

- [1] Vos, T., Allen, C., Arora, M., Barber, R., Bhutta, Z., & Brown, A. et al. (2016). Global, regional, and national incidence, prevalence, and

- years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053), 1545-1602. doi: 10.1016/s0140-6736(16)31678-6
- [2] Fitzmaurice, C., Allen, C., Barber, R., Barregard, L., Bhutta, Z., & Brenner, H. et al. (2017). Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncology*, 3(4), 524-548. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.5688
- [3] Motofei, I. (2018). Biology of Cancer; From Cellular Cancerogenesis to Supracellular Evolution of Malignant Phenotype. *Cancer Investigation*, 36(5), 309-317. doi: 10.1080/07357907.2018.1477955
- [4] Dawson, M., & Kouzarides, T. (2012). Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy. *Cell*, 150(1), 12-27. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.013
- [5] Li, E., & Zhang, Y. (2014). DNA Methylation in Mammals. *Cold Spring Harbor Perspectives In Biology*, 6(5), a019133-a019133. doi: 10.1101/cshperspect.a019133
- [6] Martens-Uzunova, E., Böttcher, R., Croce, C., Jenster, G., Visakorpi, T., & Calin, G. (2014). Long Noncoding RNA in Prostate, Bladder, and Kidney Cancer. *European Urology*, 65(6), 1140-1151. doi: 10.1016/j.euro.2013.12.003
- [7] Jalali, S., Kapoor, S., Sivadas, A., Bhartiya, D., & Scaria, V. (2015). Computational approaches towards understanding human long non-coding RNA biology. *Bioinformatics*, 31(14), 2241-2251. doi: 10.1093/bioinformatics/btv148
- [8] Hajjari, M., & Salavaty, A. (2015). HOTAIR: an oncogenic long non-coding RNA in different cancers. *Cancer Biology & Medicine*, 12(1), 1-9. doi: 10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0006.
- [9] Li, J., Wang, J., Zhong, Y., Guo, R., Chu, D., Qiu, H., & Yuan, Z. (2017). HOTAIR: a key regulator in gynecologic cancers. *Cancer Cell International*, 17(65), doi: 10.1186/s12935-017-0434-6
- [10] Cai, B., Song, X., Cai, J., & Zhang, S. (2014). HOTAIR: a cancer-related long non-coding RNA. *Neoplasma*, 61(4), 379-391. doi: 10.4149/neo\_2014\_075
- [11] Yu, X., & Li, Z. (2015). Long non-coding RNA HOTAIR: A novel oncogene (Review). *Molecular Medicine Reports*, 12(4), 5611-5618. doi: 10.3892/mmr.2015.4161
- [12] Martínez-Fernández, M., Feber, A., Dueñas, M., Segovia, C., Rubio, C., & Fernandez, M. et al. (2015). Analysis of the Polycomb-related lncRNAs HOTAIR and ANRIL in bladder cancer. *Clinical Epigenetics*, 7(109), doi: 10.1186/s13148-015-0141-x
- [13] Yu, D., Zhang, C., & Gui, J. (2017). RNA-binding protein HuR promotes bladder cancer progression by competitively binding to the long non-coding HOTAIR with miR-1. *Oncotargets And Therapy*, 10, 2609-2619. doi: 10.2147/ott.s132728
- [14] Sun, X., Du, P., Yuan, W., Du, Z., Yu, M., Yu, X., & Hu, T. (2015). Long non-coding RNA HOTAIR regulates cyclin J via inhibition of microRNA-205 expression in bladder cancer. *Cell Death & Disease*, 6(10), e1907. doi: 10.1038/cddis.2015.269
- [15] A global reference for human genetic variation. (2015). *Nature*, 526, 68-74. doi: 10.1038/nature15393
- [16] Gong, W., Yin, J., Li, X., Fang, C., Xiao, D., & Zhang, W. et al. (2016). Association of well-characterized lung cancer lncRNA polymorphisms with lung cancer susceptibility and platinum-based chemotherapy response. *Tumor Biology*, 37(6), 8349-8358. doi: 10.1007/s13277-015-4497-5
- [17] Taheri, M., Habibi, M., Noroozi, R., Rakhshan, A., Sarrafzadeh, S., & Sayad, A. et al. (2017). HOTAIR genetic variants are associated with prostate cancer and benign prostate hyperplasia in an Iranian population. *Gene*, 613, 20-24. doi: 10.1016/j.gene.2017.02.031
- [18] Korpala, M., Puyang, X., Jeremy Wu, Z., Seiler, R., Furman, C., & Oo, H. et al. (2017). Evasion of immunosurveillance by genomic alterations of PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  in bladder cancer. *Nature Communications*, 8(103), doi: 10.1038/s41467-017-00147-w
- [19] Okegawa, T., Ushio, K., Imai, M., Morimoto, M., & Hara, T. (2013). Orphan nuclear receptor HNF4G promotes bladder cancer growth and invasion through the regulation of the hyaluronan synthase 2 gene. *Oncogenesis*, 2(7), e58. doi: 10.1038/oncsis.2013.25
- [20] Min, L., Mu, X., Tong, A., Qian, Y., Ling, C., Yi, T., & Zhao, X. (2018). The association between HOTAIR polymorphisms and cancer susceptibility: an updated systemic review and meta-analysis. *Oncotargets And Therapy*, 11, 791-800. doi: 10.2147/ott.s151454
- [21] Li, J., Cui, Z., Li, H., Lv, X., Gao, M., & Yang, Z. et al. (2018). Long non-coding RNA HOTAIR polymorphism and susceptibility to cancer: an updated meta-analysis. *Environmental Health And Preventive Medicine*, 23(8), doi: 10.1186/s12199-018-0697-0
- [22] Hassanzarei, S., Hashemi, M., Sattarifard, H., Hashemi, S., Bahari, G., & Ghavami, S. (2017). Genetic polymorphisms of HOTAIR gene are associated with the risk of breast cancer in a sample of southeast Iranian population. *Tumor Biology*, 39(10), 1-8. doi: 10.1177/1010428317727539
- [23] Yan, R., Cao, J., Song, C., Chen, Y., Wu, Z., Wang, K., & Dai, L. (2015). Polymorphisms in lncRNA HOTAIR and susceptibility to breast cancer in a Chinese population. *Cancer Epidemiology*, 39(6), 978-985. doi: 10.1016/j.canep.2015.10.025
- [24] Weng, S., Wu, W., Hsiao, Y., Yang, S., Hsu, C., & Wang, P. (2018). Significant association of long non-coding RNAs HOTAIR genetic polymorphisms with cancer recurrence and patient survival in patients with uterine cervical cancer. *International Journal Of Medical Sciences*, 15(12), 1312-1319. doi: 10.7150/ijms.27505
- [25] Guo, L., Lu, X., Zheng, L., Liu, X., & Hu, M. (2016). Association of Long Non-Coding RNA HOTAIR Polymorphisms with Cervical Cancer Risk in a Chinese Population. *PLoS One*, 11(7), e0160039. doi: 10.1371/journal.pone.0160039
- [26] Li, H., Tang, X., Liu, Y., Li, W., Chen, Q., & Pan, Y. (2017). Association of Functional Genetic Variants of HOTAIR with Hepatocellular Carcinoma (HCC) Susceptibility in a Chinese Population. *Cellular Physiology And Biochemistry*, 44(2), 447-454. doi: 10.1159/000485011
- [27] Su, S., Hsieh, M., Lin, C., Chuang, C., Liu, Y., Yeh, C., & Yang, S. (2018). Impact of HOTAIR Gene Polymorphism and Environmental Risk on Oral Cancer. *Journal Of Dental Research*, 97(6), 717-724. doi: 10.1177/0022034517749451
- [28] Wang, C., Li, Y., Li, Y., Zhang, H., Gong, H., & Yuan, Y. et al. (2018). HOTAIR lncRNA SNPs rs920778 and rs1899663 are associated with smoking, male gender, and squamous cell carcinoma in a Chinese lung cancer population. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(11), 1797-1803. doi: 10.1038/s41401-018-0083-x
- [29] Yang, X., He, J., Chang, Y., Luo, A., Luo, A., & Zhang, J. et al. (2018). HOTAIR gene polymorphisms contribute to increased neuroblastoma susceptibility in Chinese children. *Cancer*, 124(12), 2599-2606. doi: 10.1002/cncr.31353

# Evaluation of risk factors and modern possibilities for prediction of preterm labour

A. O. Shevchenko<sup>\*A-D</sup>, Yu. Ya. Krut<sup>E,F</sup>

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

**The aim** is based on the comprehensive examination of pregnant women to determine the risk factors for preterm labor and develop criteria for its prediction.

**Materials and methods.** In a prospective opened study took part 63 patients at 22–34 weeks of gestation. The study was carried out on the basis of PI “Regional Perinatal Center” ZRC, which is the clinical base of the Department of Obstetrics and Gynecology, ZSMU. The average age of pregnant women was  $27.1 \pm 0.8$  (M  $\pm$  SD) years. Pregnant women were divided into two groups, depending on the gestation period course. Thus, group I included 44 pregnant women who had TPL (threatened preterm labor), and group II – 19 patients with normal course of pregnancy. In the first day, body mass index was determined and laboratory examinations (progesterone, insulin and cortisol level) were performed.

**Results.** According to the ROC analysis, we obtained the following distribution points: the age of pregnant women over 35 years (sensitivity 33.3 %, specificity 96.1 %), the area under the ROC curve of 0.542 (95 % CI 0.411–0.668,  $P = 0.6953$ ); body mass index (BMI)  $\leq 22.95$  kg/m<sup>2</sup> (sensitivity 66.7 %, specificity 84.3 %), the area under the ROC curve 0.694 (95 % CI 0.566–0.804,  $P = 0.01$ ); insulin  $> 31.36$   $\mu$ Me/ml (sensitivity 41.7 %, specificity 90.2 %), the area under the ROC curve 0.505 (95 % CI 0.376–0.633,  $P = 0.96$ ); cortisol  $\leq 609.7$  ng/ml (75 % sensitivity, 55 % specificity), the area under the ROC curve of 0.694 (95 % CI 0.518–0.765,  $P = 0.07$ ); progesterone  $< 247.8$  ng/ml (sensitivity 41.7 %, specificity 88.2 %), the area under the ROC curve 0.579 (95 % CI 0.448–0.703,  $P = 0.4$ ).

**Conclusions.** The results of the conducted research indicate that multivariate logistic regression analysis allows determining the risk factors of preterm labor. Among the established prognostic markers for spontaneous preterm birth, the most comprehensive information is the complex assessment of age, BMI and hormonal profile. The findings suggest that dependent risk factors for preterm birth include: the level of progesterone lower than 139.5 ng/ml, cortisol less than 577.9 ng/ml, BMI less than 24 kg/m<sup>2</sup> and maternal age of over 25 years. Independent factors should include the maternal age of over 35 years, the level of insulin above 31.36 ng/ml and progesterone less than 247.8 ng/ml. Considering the study results, high specificity and sensitivity of the proposed multivariate models, it would be appropriate to include measurements of progesterone, insulin and cortisol levels in the standard examination complex for pregnant women from 22 to 34 weeks of gestation. It will enable the identification of a risk group for preterm labor and implementation of timely prevention.

## Key words:

preterm birth, progesterone, insulin, cortisol, prognosis.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 759–763

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186500

\*E-mail:  
shevchenkoaa0202@gmail.com

## Оцінювання факторів ризику та сучасні можливості прогнозування передчасних пологів

А. О. Шевченко, Ю. Я. Круть

**Мета роботи** – на підставі комплексного обстеження вагітних встановити фактори ризику передчасних пологів і розробити критерії їх прогнозування.

**Матеріали та методи.** У проспективному відкритому дослідженні взяли участь 63 пацієнтки в терміні вагітності 22–34 тижні. Дослідження виконали на базі КЗ «Обласний перинатальний центр» ЗОР, що є клінічною базою кафедри акушерства та гінекології ЗДМУ. Середній вік вагітних –  $27,1 \pm 0,8$  (M  $\pm$  SD) року. Вагітних поділили на дві групи залежно від перебігу гестаційного періоду. У I групу увійшли 44 вагітні, які мали загрозу передчасних пологів, а в II – 19 пацієнток із нормальним перебігом вагітності. Протягом першої доби всім жінкам встановили індекс маси тіла (ІМТ) і здійснили лабораторне обстеження (визначення прогестерону, інсуліну та кортизолу).

**Результати.** У результаті ROC-аналізу отримали такі точки розподілу: вік вагітних понад 35 років (чутливість – 33,3 %, специфічність – 96,1 %), площа під кривою – 0,542 (95 % ДІ 0,411–0,668;  $p = 0,6953$ ); індекс маси тіла (ІМТ)  $\leq 22,95$  кг/м<sup>2</sup> (чутливість – 66,7 %, специфічність – 84,3 %), площа під кривою – 0,694 (95 % ДІ 0,566–0,804;  $p = 0,01$ ); інсулін  $> 31,36$  мкМЕ/мл (чутливість – 41,7 %, специфічність – 90,2 %), площа під кривою – 0,505 (95 % ДІ 0,376–0,633;  $p = 0,96$ ); кортизол  $\leq 609,7$  нг/мл (чутливість – 75 %, специфічність – 55 %), площа під кривою – 0,649 (95 % ДІ 0,518–0,765;  $p = 0,07$ ); прогестерон  $< 247,8$  нг/мл (чутливість – 41,7 %, специфічність – 88,2 %), площа під кривою – 0,579 (95 % ДІ 0,448–0,703;  $p = 0,4$ ).

**Висновки.** Результати дослідження свідчать, що багатфакторний логістичний регресійний аналіз дає можливість визначити фактори ризику передчасних пологів. Серед встановлених прогностичних маркерів щодо спонтанного розвитку передчасних пологів найбільш інформативним є комплексне оцінювання віку, ІМТ і гормонального профілю. Встановлені дані свідчать, що залежними факторами ризику передчасних пологів є рівень прогестерону менше ніж 139,5 нг/мл, кортизолу менше ніж 577,9 нг/мл, ІМТ менше за 24 кг/м<sup>2</sup> і вік вагітної понад 25 років. Незалежні фактори: вік вагітних понад 35 років, рівень інсуліну понад 31,36 мкМЕ/мл, рівень прогестерону менше ніж 247,8 нг/мл. Враховуючи

## Ключові слова:

передчасні пологи, прогестерон, інсулін, кортизол, прогнозування.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 759–763

результати дослідження, високу специфічність і чутливість запропонованих мультиваріантних моделей, вагітним у терміні 22–34 тижні доцільно в комплекс стандартного обстеження включати визначення рівня прогестерону, інсуліну, кортизолу, що дає змогу виявити групу ризику щодо розвитку передчасних пологів та своєчасно вжити профілактичних заходів.

**Ключевые слова:**  
преждевременные роды, прогестерон, инсулин, кортизол, прогнозирование.

Запорозький  
медичинський  
журнал. – 2019. –  
Т. 21, № 6(117). –  
С. 759–763

## Оценка факторов риска и современные возможности прогнозирования преждевременных родов

А. А. Шевченко, Ю. Я. Круть

**Цель работы** – на основании комплексного обследования беременных определить факторы риска преждевременных родов и разработать критерии их прогнозирования.

**Материалы и методы.** В проспективном открытом исследовании приняли участие 63 пациентки в сроке беременности 22–34 недели. Исследование выполнено на базе КУ «Областной перинатальный центр» ЗОС, который является клинической кафедры акушерства и гинекологии ЗГМУ. Средний возраст беременных составил  $27,1 \pm 0,8$  (M  $\pm$  SD) года. Беременных поделили на две группы в зависимости от течения гестационного периода. В I группу вошли 44 беременные с угрозой преждевременных родов, а во II – 19 пациенток с нормальным течением беременности. В первые сутки у всех женщин определили индекс массы тела (ИМТ) и выполнили лабораторное обследование (определение прогестерона, инсулина и кортизола).

**Результаты.** В результате ROC-анализа получены такие точки распределения: возраст беременных старше 35 лет (чувствительность – 33,3 %, специфичность – 96,1 %), площадь под ROC кривой – 0,542 (95 % ДИ 0,411–0,668;  $p = 0,6593$ ); индекс массы тела (ИМТ)  $\leq 22,95$  кг/м<sup>2</sup> (чувствительность – 66,7 %, специфичность – 84,3 %), площадь под ROC кривой – 0,694 (95 % ДИ 0,566–0,804;  $p = 0,01$ ); инсулин  $> 31,36$  мкМЕ/мл (чувствительность – 41,7 %, специфичность – 90,2 %), площадь под ROC кривой – 0,505 (95 % ДИ 0,376–0,633;  $p = 0,96$ ); кортизол  $\leq 609,7$  нг/мл (чувствительность – 75 %, специфичность – 55 %), площадь под ROC кривой – 0,649 (95 % ДИ 0,518–0,765;  $p = 0,07$ ); прогестерон  $< 247,8$  нг/мл (чувствительность – 41,7 %, специфичность – 88,2 %), площадь под ROC кривой – 0,579 (95 % ДИ 0,448–0,703;  $p = 0,4$ ).

**Выводы.** Результаты свидетельствуют, что многофакторный логистический регрессионный анализ позволяет определить факторы риска преждевременных родов. Среди установленных прогностических маркеров спонтанного развития преждевременных родов наиболее информативной является комплексная оценка возраста, ИМТ и гормонального профиля. Установленные данные показали, что к зависимым факторам риска преждевременных родов относятся уровень прогестерона меньше 139,5 нг/мл, кортизола меньше 577,9 нг/мл, ИМТ меньше 24 кг/м<sup>2</sup> и возраст беременной более 25 лет. К независимым факторам следует отнести возраст беременных старше 35 лет, уровень инсулина более 31,36 мкМЕ/мл и уровень прогестерона меньше 247,8 нг/мл. Учитывая результаты исследования, высокую специфичность и чувствительность предложенных мультивариантных моделей, беременным в сроке 22–34 недели целесообразно в комплекс стандартного обследования включать определение уровня прогестерона, инсулина и кортизола, что позволит установить группу риска по развитию преждевременных родов и своевременно провести профилактические мероприятия.

For many years, premature delivery (PD) remains one of the main problems of modern practical obstetrics due to high rates of reproductive loss, perinatal morbidity and mortality in preterm infants. Today, positive changes in this area have been achieved through a set of measures within the framework of the National Programs, regionalization of perinatal care and continuous improvement of the conditions for children with a small and extremely low body weight at birth. However, the data from the State Program for "Reproductive Health of the Nation" for the period up to 2018 indicate that direct reproductive losses from PD make up 36–40 thousand unborn wanted children annually and do not have a tendency to decrease, despite the high potential of obstetricians in the implementation of numerous and highly effective diagnostic methods and treatment regimens for pregnancy maintenance. The frequency of PD remains high and ranges between 10–12 % and 20–25 % of the total number of pregnancies [1,2]. More than 30–40 % of perinatal pathology and mortality cases are associated or predisposed to PD [3].

Given the fact that PD is based on both polyetiologic factors and polypathogenetic mechanisms of development, at the present stage, it is considered not as an independent nosological entity, but as a syndrome [4]. PD syndrome covers a combination of processes caused by fibronectin assembly, changes in the cervical length, activation of infection in a pregnant woman, proinflammatory cytokines

production in the amniotic fluid, and diseases of the newborn associated with an intrauterine infection [5].

The frequency of preterm birth varies in different regions of the world, for example, in the United States, PD rates are from 12 % to 13 %, while in Europe and other developed countries, official rates range from 5 % to 9 % [6,7]. It should be noted that during the last decade in industrialized countries, the rate of PD is increasing, for example, in the USA this indicator has increased from 9.5 % to 12.8 % (25 %) [7], despite the fact that specialists and scientists have obtained up-to-date knowledge about risk factors and mechanisms of PD development over the last years, as well as a number of social and medical interventions have been developed to reduce the rate of preterm labor [8].

Overall proportion of premature birth in the structure of perinatal mortality is about 75 % and in the structure of long-term morbidity in children – more than 50 % and it is the biggest problem [9]. In addition, most of premature children have an increased risk of developing neurological, respiratory and gastro-intestinal violations [9].

In fact, there are two reasons for inability to reduce the frequency of PD: the lack of both necessary examinations to identify women at high risk and effective measures to prevent these complications. Current conditions dictate the need to find new methods for predicting PD, as well as the use of new more effective methods of pregnancy maintenance.

## The aim

The aim is based on the comprehensive examination of pregnant women to determine the risk factors for preterm labor and develop criteria for its prediction.

## Materials and methods

In a prospective open study, 63 patients at 22–34 weeks of gestation were included. Pregnant women were involved in the study after signing an informed consent. The study was carried out on the basis of PI "Zaporozhzhia Regional Perinatal Center", which is the clinical base for the Department of Obstetrics and Gynecology, ZSMU (the head of the Department – MD, PhD, DSc, Professor Yu. Ya. Krut). The average age of the pregnant women was  $27.1 \pm 0.8$  (M  $\pm$  SD) years. The pregnant women were divided into two groups, depending on the gestation period course. Thus, group I included 44 pregnant women who had threatened preterm labor (TPL), and group II – 19 patients with a normal course of pregnancy.

The exclusion criteria were severe somatic diseases. Every pregnant woman was interviewed to determine whether additional methods of examination would be appropriate and gave consent for their performance. The study met the modern moral and ethical standard requirements regarding the ICH/GCP Guidelines, the Helsinki Declaration of 1964, the Council of Europe Conference on Human Rights and Biomedicine, as well as the provisions of the legislative acts of Ukraine.

On the first day, all women were laboratory examined (determination of progesterone, insulin and cortisol) and body mass index (BMI) was calculated.

Statistical processing of materials was carried out using the packages of programs Statistica 6.0 (StatSoft, USA) and MedCalc. The normality of quantitative characteristics distribution was checked with the Shapiro–Wilk test. The method of binary logistic regression analysis was used to determine the predictors of TPL. Factors that had a probable predictive value in one factor analysis were included in the multivariate model by the inverse step-by-step method for the determination of independent predictors. The data were presented as odds ratio and confidence intervals. Cut-off values of the quantitative indicators included in a multivariate logistic regression model were determined using ROC analysis. All statistical tests were two-sided and P values  $<0.05$  were considered statistically significant.

## Results

Pregnant women with TPL accounted for 69.8 % (44 out of 63 pregnant women) of the total number of patients involved in the study. For 12 women, pregnancy ended with preterm birth, accounting for 19.1 % of the total. Most pregnant women (80.9 %) gave birth to full-term neonates.

According to the study results, pregnant women with TPL had a 57 % ( $P < 0.05$ ) longer hospital stay after giving birth in comparison to women with normal pregnancy course ( $6.90 \pm 1.27$  days versus  $3.70 \pm 0.33$  days). It was due to PD and, in some cases, the need for special medical care for preterm infants and resuscitation measures. In the structure of diseases in preterm infants, the leading ones were:

hypoxic-ischemic injury of the central nervous system with inhibition syndrome, neonatal jaundice, respiratory distress syndrome, predominantly Type I, intraventricular cerebral hemorrhages and retinopathy of prematurity. Two children had a congenital heart disease as an intraventricular septum defect and an atrial septum defect, 2 children had neonatal jaundice.

In order to find out the factors that influence the course of pregnancy and increase the risk of PD, we have conducted an analysis of the results from the monitoring of 63 pregnant women who were observed in the PI "Zaporozhzhia Perinatal Center". Logistic regression analysis was used to determine the cut-off value of quantitative indicators that increase the risk of PD, to construct univariate and multivariate models and to identify dependent and independent risk factors for the spontaneous appearance of clinical symptoms and prematurity.

In the ROC analysis, we obtained the following distribution points (Table 1): the age of pregnant women over 35 years (sensitivity 33.3%, specificity 96.1 %), the area under the ROC curve 0.542 (95 % CI 0.411–0.668,  $P = 0.6593$ ); BMI  $\leq 22.95$  kg/m<sup>2</sup> (sensitivity 66.7 %, specificity 84.3 %), the area under the ROC curve 0.694 (95 % CI 0.566–0.804,  $P = 0.01$ ); insulin  $>31.36$   $\mu$ Me/ml (sensitivity 41.7 %, specificity 90.2 %), the area under the ROC curve 0.505 (95 % CI 0.376–0.633,  $P = 0.96$ ); cortisol  $\leq 609.7$  ng/ml (75 % sensitivity, 55 % specificity), the area under the ROC curve 0.694 (95 % CI 0.518–0.765,  $P = 0.07$ ); progesterone  $<247.8$  ng/ml (sensitivity 41.7 %, specificity 88.2 %), the area under the ROC curve 0.579 (95 % CI 0.448–0.703,  $P = 0.4$ ).

These factors have been identified as the potential risk predictors for PD using regression logistic analysis. Table 2 shows the data of the univariate regression analysis.

Consequently, according to the univariate model (Table 2), the following indicators were found to be dependent risk factors for PD: maternal  $>35$  years significantly increased the risk of PD in 12.25 times (95 % CI 1.91–78.27;  $P = 0.008$ ); the risk of PD was also 10.75 times increased in BMI less than 22.95 kg/m<sup>2</sup> (95 % CI 2.60–44.37,  $P = 0.001$ ), the insulin level above 31.36  $\mu$ M/ml significantly increased the risk of PD in 6, 65 times (95 % CI 1,507–28,659;  $P = 0.01$ ).

At cortisol levels  $\leq 609.7$  ng/ml, PD was 3.65 times (95 % CI 1.50–28.65;  $P = 0.01$ ) increased. The literary data indicate that the fetus can generate signaling factors that activate the labor activity itself. Hypothalamic-pituitary-adrenal theory is represented as one of these theories. Preparation for labor begins with the fetal adrenal cortex functional activation, which are responsible for the synthesis of major steroids – dehydroepiandrosterone and cortisol [10].

The risk of PD also depends on the level of progesterone, which was convincingly proved by the logistic regression analysis in our study. If progesterone was less than 247.8 ng/ml, the risk of PD was 5.36 times (95 % CI 1.280–22.369;  $P = 0.02$ ) increased. Progesterone plays an important role in the central and peripheral nervous system regeneration manifesting in multifaceted effects, including soothing, anxiolytic and antidepressant effects at high concentrations, and vice versa, at low levels – anxiety and fear [11–13].

We have constructed three multivariate models (Table 3) with the logistic regression analysis. According

**Table 1.** Distribution point by the ROC analysis for the risk of premature birth

Indicator	Area under ROC curve (AUC)	95 % CI	Significance level, p	Distribution point	Sensitivity, %	Specificity, %
Age, years	0.542	0.411–0.668	0.659	>35	33.3	96.1
BMI, kg / m <sup>2</sup>	0.694	0.566–0.804	0.011	≤ 22.95	66.7	84.3
Insulin, μM / ml	0.505	0.376–0.633	0.958	>31.36	41.7	90.2
Cortisol, ng / ml	0.649	0.518–0.765	0.07	≤609.7	75.0	54.9
Progesterone, ng/ml	0.579	0.448–0.703	0.403	<247.8	41.7	88.2

**Table 2.** Univariate model of the risk of premature delivery

Indicator, units	Univariate model		
	Odds Ratio, OR	Significance level, P	95 % Confidence interval, CI
Age, years	12.25	0.008	1.91–78.27
Insulin, μMe/mg	6.57	0.01	1.50–28.65
Cortisol, ng/ml	3.65	0.073	0.08–15.08
Progesterone, ng/ml	5.35	0.020	1.28–22.36
BMI, kg/m <sup>2</sup>	10.75	0.001	2.60–44.37

**Table 3.** Multivariate models of threatened preterm labor

Indicator, units	Model 1			Model 2			Model 3		
	Odds ratio, OR	Significance level, P	95% Confidence interval, CI	Odds ratio, OR	Significance level, P	95% Confidence interval, CI	Odds ratio, OR	Significance level, P	95% Confidence interval, CI
Age, years	23.87	0.007	2.37–240.45	100.95	0.002	5.42–1877.17	65.12	0.006	3.39–1249.92
Insulin, μMe/mg	10.28	0.02	1.45–72.87				12.23	0.04	1.10–135.69
Cortisol, ng/ml				10.25	0.02	1.38–76.16			
Progesterone, ng/ml	11.81	0.01	1.77–78.59						
BMI, kg/m <sup>2</sup>				56.73	0.0009	5.23–615.17	53.82	0.002	4.19–689.89

to the first model, independent risk factors of PD were the following: maternal age over 35 years, serum insulin >31.36 ng/ml and progesterone <247.8 ng/ml.

The combination of these factors significantly increased the odds ratio of PD in comparison with the influence of a particular factor in the univariate model. Thus, in the first multivariate model, maternal age over 35 years increased the risk of PD in 29.3 times (P < 0.01), the level of insulin above 31.36 increased the odds ratio (OR) in 10.3 times (P = 0.01) and progesterone level less than 247.8 ng/ml increased OR in 11.8 times (P = 0.01).

The second model combined such independent risk factors as BMI, age and cortisol level. According to this model, the age proved to be a very powerful factor that the OR was 100 times (P < 0.01) increased, maternal body weight deficiency 56 times (P < 0.01) increased the OR and the cortisol level less than 609.7 ng/ml – in 10 times (P = 0.02).

The third model also combined BMI, age and insulin content. According to our data, the risk of PD was 65 times (P < 0.01) increased in maternal age over 35 years, 54 times (P < 0.01) – in BMI less than 22.96 kg/m<sup>2</sup>, 12 times (P = 0.04) in insulin level above 31.36 μMe/mg.

PD can be caused by a variety of factors, including infections, vascular lesions, uterine contractions, violation of mechanisms of allogeneic recognition, stress and other pathological processes [14, 15].

It is known that increased activity of endogenous progesterone is required for normal pregnancy development as it can directly reduce the risk of PD due to endocrine and anti-inflammatory mechanisms. In addition, it has been shown that the level of endogenous progesterone

withdrawal is involved in the onset of labor. It was followed by numerous studies on the evaluation of exogenous progesterone efficacy for PD prevention.

There are a number of recognized risk factors for PD, including PD in the anamnesis, a short cervix according to ultrasound data in the second trimester of pregnancy, and a high concentration of cervicovaginal fetal fibronectin. The cervical length according to ultrasound data is a powerful and informative prognostic marker for PD, even more significant than the presence of PD in the anamnesis [16, 17].

## Discussion

So, according to our data, the dependent factors for PD include:

- progesterone less than 139.5 ng/ml increases the OR in 8.23 times (95 % CI 1.06– 63.94; P = 0.043);
- cortisol less than 577.9 ng/ml increases the OR in 10.6 times (95 % CI 1.93–57.68; P = 0.006);
- BMI less than 24 kg/m<sup>2</sup> increases the OR in 12.4 times (95 % CI, 1.89–81.14, P = 0.008);
- age more than 25 years increases the OR in 4.48 times (95 % CI 1.002–20.06, P = 0.049).

Among the independent factors for PD are:

- age over 35 years increases the risk in 29.3 times (P = 0.007);
- the level of insulin over 31.36 μMe/mg increases the OR in 10.3 times (P = 0,01);
- the level of progesterone less than 247.8 ng/ml increases OR in 11.8 times (P = 0.01).



## Conclusions

1. The results of the conducted study indicate that multivariate logistic regression analysis allows determining the risk factors for preterm labor. Among the established prognostic markers for spontaneous development of preterm labor, the complex assessment of age, BMI and hormonal profile contain the most comprehensive information.

2. The findings suggest that dependent risk factors for preterm birth include: the level of progesterone lower than 139.5 ng/ml, cortisol less than 577.9 ng/ml, BMI less than 24 kg/m<sup>2</sup> and maternal age of over 25 years. Independent factors should include maternal age of over 35 years, the level of insulin above 31.36 ng/ml and progesterone less than 247.8 ng/ml.

3. Considering the study results, high specificity and sensitivity of the proposed multivariate models, it would be appropriate to include measurements of progesterone, insulin and cortisol levels in the standard examination complex for pregnant women from 22 to 34 weeks of gestation. It will enable the identification of a risk group for preterm labor and implementation of timely prevention.

**Prospects for further research.** A comprehensive assessment of biochemical markers taking into account the psycho-emotional state of pregnant women with PD is going to be conducted.

## Funding

The research was carried out within the framework of research work of the Zaporizhzhia State Medical University "Scientific substantiation of the influence of non-medicamentous and medical methods of treatment of pregnant women on reduction of obstetric and perinatal complications" (state registration number O110U000909).

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 27.07.2019  
Після доопрацювання / Revised: 14.08.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 05.09.2019

## Information about the authors:

Shevchenko A. O., MD, Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Krut Yu. Ya., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

## Відомості про авторів:

Шевченко А. О., асистент каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Круть Ю. Я., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

## Сведения об авторах:

Шевченко А. А., ассистент каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Круть Ю. Я., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

## References

- Serov, V. N., Sidelnikova, V. M., Agadzhanova, A. A., & Tetruashvili, N. K. (2003). Rannie poteri beremennosti – novoe ponimanie gormonalnykh narushenij [Early pregnancy losses – a new understanding of hormonal disorders]. *Russian Medical Journal*, 11(16), 907-908. [in Russian].
- Zhuk, C. I., & Chechuga, S. B. (2008). Sovremennye aspekty patogeneza, diagnostiki i lechenija gipergomocisteinemii u zhenshhin s nevnashivaniem beremennosti [Modern concepts of the pathogenesis, diagnosis and treatment of hyperhomocysteinemia in women with miscarriage]. *Women's doctor*, 5, 14. [in Russian].
- Di Renco, D.K. (2008). Sovremennij vzgljad na vedenie prezhdvremennykh rodov [Modern view on management of preterm birth]. *Women's doctor*, 4, 41. [in Russian].
- Usanov, V. D., Shtah, A. F., Ishkova, M. V., Magdeeva, N. I., Popova, O. A., & Timshin, A. V. (2010). Akusherskie aspekty prezhdvremennykh rodov. Sovremennye predstavlenija [Obstetric aspects of preterm birth. Modern views]. *University proceedings. Volga region*, 1(13), 120-132. [in Russian].
- Hodzhaeva, Z. S. (2010). Taktika vedenija spontannykh prezhdvremennykh rodov s pozicij dokazatelnoj mediciny [Management tactics of spontaneous preterm birth from the point of view of evidence-based medicine]. *Gynaecology*, 2, 12-16. [in Russian].
- Slattery, M., & Morrison, J. (2002). Preterm delivery. *The Lancet*, 360(9344), 1489-1497. doi: 10.1016/s0140-6736(02)11476-0
- Hamilton, B., Martin, J., Ventura, S., Sutton, P., & Menacker, F. (2006). Births: Preliminary Data for 2007. National vital statistics reports: from the Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System. *CDC*, 54, 1-17.
- Goldenberg, R., & Rouse, D. (1998). Prevention of Premature Birth. *New England Journal Of Medicine*, 339(5), 313-320. doi: 10.1056/nejm199807303390506
- McCormick, M. (1985). The Contribution of Low Birth Weight to Infant Mortality and Childhood Morbidity. *New England Journal Of Medicine*, 312(2), 82-90. doi: 10.1056/nejm198501103120204
- Zhukovec, I. V., & Zarickaja, Je. N. (2012). Sintez steroidnykh gormonov vo vremja beremennosti [The synthesis of steroid hormones during pregnancy]. *Yakut Medical Journal*, 2, 96-98. [in Russian].
- Andréen, L., Nyberg, S., Turkmen, S., van Wingen, G., Fernández, G., & Bäckström, T. (2009). Sex steroid induced negative mood may be explained by the paradoxical effect mediated by GABA<sub>A</sub> modulators. *Psychoneuroendocrinology*, 34(8), 1121-1132. doi: 10.1016/j.psyneuen.2009.02.003
- Schiller, C., Meltzer-Brody, S., & Rubinow, D. (2014). The role of reproductive hormones in postpartum depression. *CNS Spectrums*, 20(1), 48-59. doi: 10.1017/s1092852914000480
- Stopińska-Gluszak, U., Wasilewska-Dziubińska, E., Słowińska-Szednicka, J. (2008) Progesteron – neurosteroid syntetyzowany w układzie nerwowym [Progesterone – neurosteroid synthesized in nervous system.]. *Postępy Nauk Medycznych*, 3, 154-158. [in Polish].
- Ananth, C., Ananth, C., & Vintzileos, A. (2006). Epidemiology of preterm birth and its clinical subtypes. *The Journal Of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 19(12), 773-782. doi: 10.1080/14767050600965882
- Spiridonova, N. V., & Melkadze, E. V. (2013). Sostojanie novorozhdennykh u zhenshhin pri prezhdvremennykh rodah v zavisimosti ot nalichija угрозы прерывания беременности в I, II, III триместрах гестации [The condition of newborns in women with preterm birth depending on a miscarriage risk during the I, II, III gestation trimesters]. *Mother and Child. Proceedings of the XIV All-Russian scientific forum*. (pp. 461-462). Moscow. [in Russian].
- Hassan, S., Romero, R., Vidyadhari, D., Fusey, S., Baxter, J., & Khandelwal, M. et al. (2011). Vaginal progesterone reduces the rate of preterm birth in women with a sonographic short cervix: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ultrasound In Obstetrics & Gynecology*, 38(1), 18-31. doi: 10.1002/uog.9017
- Behrman, R. E. (2007). Institute of Medicine (US) Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcomes. Behrman, R. E., & Butler, A. S. (Eds). *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. Washington, DC: National Academies Press (US). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11362/> doi: 10.17226/11622

## Features of women's reproductive dysfunctions associated with prolonged stressful situations

O. H. Horbatiuk<sup>\*1,A,C,E</sup>, A. S. Shatkovska<sup>1,A,D</sup>, A. P. Hryhorenko<sup>1,F</sup>, O. V. Vaskiv<sup>1,C</sup>,  
I. O. Bets<sup>2,B</sup>, I. M. Kustovska<sup>2,B</sup>, A. I. Petrash<sup>2,B</sup>, M. H. Palahniuk<sup>2,B</sup>

<sup>1</sup>National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine, <sup>2</sup>National Bohdan Khmelnytskyi Memorial Academy of the State Border Guard Service of Ukraine, Khmelnytskyi

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

### Key words:

stress,  
menstruation  
disturbances,  
menstrual cycle.

Zaporozhye  
medical journal  
2019; 21 (6), 764–769

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186501

\*E-mail:  
shymanskaolga09@  
gmail.com

The number of appeals of migrant women and servicewomen for specialized gynecological care has increased during the years of the armed conflict in Eastern Ukraine.

**The aim** of the work was a comprehensive study of the hormonal function of pituitary gland, ovaries, thyroid gland and adrenal glands in women of reproductive age with various types of menstrual cycle disorders caused by a prolonged stressful situation.

**Materials and methods.** With the help of immune-enzyme analysis the authors have conducted a study of pituitary hormones (FSH, LH, prolactin), ovarian hormones (estradiol, progesterone, free T), thyroid hormones (TSH, FT<sub>4</sub>) and thyroid peroxidase antibodies, as well as adrenal glands hormones (ACTH, cortisol (urine), DHEA-s) of 74 migrant women and servicewomen with menstrual disorders caused by a stressful situation. According to complaints, women were divided into 2 subgroups: with amenorrhea 34 (45.9 %) and abnormal uterine bleeding – 40 (54.1 %).

**Results.** Women with stressed amenorrhea had a significant 2 times ( $P < 0.05$ ) increase in FSH; 1.9 times – LH; 1.6 times – prolactin (which is not typical for classical hyperprolactinemia) and 3.2 times decrease in estradiol, 3.9 times – progesterone in comparison to the control group. Dysfunction of the thyroid gland was recorded, in particular 2 times decrease in FT<sub>4</sub> and 1.7 times increase in thyroperoxidase antibodies relative to the control. A significant 1.6 times increase in ACTH, 1.8 times increase in cortisol (urine) and 1.6 times increase in DHEA-s were detected compared with the control. Women with abnormal uterine bleeding had a significant 1.5 times ( $P < 0.05$ ) increase in prolactin, 1.3 times increase in estradiol, and a 2.5 times decrease in progesterone compared to the control women group. 90.5 % of women of reproductive age with menstrual cycle disorders caused by the influence of prolonged stress factor had hormonal disorders of the ovaries, adrenal glands and thyroid gland.

**Conclusions.** In women with stress-related amenorrhea there is a violation of the relationship in the hypothalamic – pituitary system while maintaining the negative feedback loops of the pituitary-ovarian axis or ovarian depletion; post-traumatic stress disorders have a significant pathological effect on the reproductive system of women who have experienced such suffering.

### Ключові слова:

стрес, менструації  
порушення,  
менструальний  
цикл.

Запорізький  
медичний  
журнал. – 2019. –  
Т. 21, № 6(117). –  
С. 764–769

### Особливості порушень репродуктивного здоров'я жінок, що пов'язані з тривалими стресовими ситуаціями

О. Г. Горбатюк, А. С. Шатковська, А. П. Григоренко, О. В. Васків, І. О. Бец, І. М. Кустовська, А. І. Петраш, М. Г. Палагнюк

За роки збройного конфлікту на сході України збільшилась кількість звернень жінок-переселенок і жінок-військовослужбовців за спеціалізованою гінекологічною допомогою.

**Мета роботи** – комплексне дослідження гормонопродукувальної функції гіпофіза, яєчників, щитоподібної залози та надниркових залоз у жінок репродуктивного віку при різних видах порушень менструального циклу, що спричинені тривалою стресовою ситуацією.

**Матеріали та методи.** За допомогою імуноферментного аналізу здійснили дослідження гіпофізарних гормонів (ФСГ, ЛГ, пролактину), яєчникових гормонів (естрадіолу, прогестерону, вільного тестостерону), а також гормонів щитоподібної залози (ТТГ, Т<sub>4</sub> вільного) та антитіл до тиреопероксидази, гормонів надниркових залоз (АКТГ, кортизолу (сечі), ДГЕА-с) у 74 жінок-переселенок і жінок-військовослужбовців із порушеннями менструального циклу, що спричинені стресовою ситуацією. На підставі скарг жінок поділили на 2 підгрупи: з аменореєю – 34 (45,9 %), з аномальними матковими кровотечами – 40 (54,1 %).

**Результати.** У результаті дослідження в жінок з аменореєю виявили вірогідне ( $p < 0,05$ ) збільшення ФСГ удвічі, ЛГ в 1,9 раза, пролактину в 1,6 раза (не властиве класичній гіперпролактинемії), а також зниження естрадіолу у 3,2 раза, прогестерону у 3,9 раза щодо контрольної групи. Зафіксували відхилення в роботі щитоподібної залози: зниження Т<sub>4</sub> вільн., удвічі та підвищення АТГО в 1,7 раза щодо контролю. Виявили вірогідне ( $p < 0,05$ ) підвищення АКТГ у 1,6 раза, кортизолу (сечі) – в 1,8 раза та ДГЕА-с – в 1,6 раза порівняно з контролем. У жінок з аномальними матковими кровотечами відбувалось вірогідне ( $p < 0,05$ ) підвищення пролактину в 1,5 раза, естрадіолу в 1,3 раза та зниження прогестерону у 2,5 раза порівняно з контрольною групою жінок. У 90,5 % жінок репродуктивного віку з порушеннями менструального циклу, що виникли під впливом тривалого стресового фактора, виявили гормональні порушення в роботі яєчників, надниркових залоз чи щитоподібної залози.

**Висновки.** У жінок зі стресогенною аменореєю виявили порушення взаємовідносин у системі гіпоталамус – гіпофіз при збереженні негативного зворотного зв'язку між яєчниками та гіпофізом або виснаження яєчників; посттравматичні стресові порушення мають значущий патологічний вплив на репродуктивну систему жінок, які їх перенесли.

## Особенности нарушения репродуктивного здоровья женщин, связанные с длительными стрессовыми ситуациями

О. Г. Горбатюк, А. С. Шатковская, А. П. Григоренко, О. В. Васькив, И. О. Бец, И. Н. Кустовская, А. И. Петраш, М. Г. Палагнюк

За годы вооруженного конфликта на востоке Украины увеличилось количество обращений женщин-переселенок и женщин-военнослужащих за специализированной гинекологической помощью.

**Цель работы** – комплексное исследование гормонопродуцирующей функции гипофиза, яичников, щитовидной и надпочечниковых желез у женщин репродуктивного возраста с разными видами нарушений менструального цикла, которые возникли под влиянием длительного стрессового фактора.

**Материалы и методы.** С помощью иммуноферментного анализа проведено исследование гипофизарных гормонов (ФСГ, ЛГ, пролактина), яичниковых гормонов (эстрадиола, прогестерона, свободного тестостерона), а также гормонов щитовидной железы (ТТГ, свободного  $T_4$ ) и антител к тиреопероксидазе, гормонов надпочечниковых желез (АКТГ, кортизола (мочи), ДГЭА-с) у 74 женщин-переселенок и женщин-военнослужащих с нарушениями менструального цикла, которые произошли на фоне стрессовой ситуации. На основании жалоб женщин разделили на 2 подгруппы: с аменореей – 34 (45,9 %), с аномальными маточными кровотечениями – 40 (54,1 %).

**Результаты.** В результате исследования у женщин с аменореей установлено достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение ФСГ в 2 раза, ЛГ в 1,9 раза, пролактина в 1,6 раза (что не характерно для классической гиперпролактинемии), а также снижение эстрадиола в 3,2 раза и прогестерона в 3,9 раза относительно контрольной группы. Зафиксировано отклонение в работе щитовидной железы, а именно снижение  $T_{4\text{своб}}$  в 2,0 раза и увеличение АТПО в 1,7 раза по отношению к контролю. Установлено достоверное увеличение АКТГ в 1,6 раза, кортизола (мочи) в 1,8 раза, ДГЭА-с в 1,6 раза в сравнении с контролем. У женщин с аномальными маточными кровотечениями отмечено достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение пролактина в 1,5 раза, эстрадиола в 1,3 раза, снижение прогестерона в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой женщин. У 90,5 % пациенток репродуктивного возраста с нарушениями менструального цикла, которые возникли под влиянием длительного стрессового фактора, диагностированы гормональные нарушения в работе яичников, щитовидной и надпочечниковых желез.

**Выводы.** У женщин со стрессогенной аменореей имеет место нарушение взаимоотношений в системе гипоталамус – гипофиз при сохранении негативной обратной связи между яичниками и гипофизом либо же истощение яичников; посттравматические стрессовые нарушения имеют значительное патологическое влияние на репродуктивную систему женщин, которые их перенесли.

**Ключевые слова:**  
стресс,  
менструации  
нарушения,  
менструальный  
цикл.

Запорожский  
медицинский  
журнал. – 2019. –  
Т. 21, № 6(117). –  
С. 764–769

The number of local military conflicts which are mostly harmful for women and children is increasing each year in the world. A local armed conflict continues from 2014 to the present time in the East of Ukraine, which has caused an increase in the number of migrant women and service-women seeking specialized gynecological care.

Post-traumatic stress dysfunctions of military and civilian population that arise as a result of warfare (in different countries) have been studied mainly by neurologists and psychiatrists. The results of these studies indicate the long-term and serious medical and social consequences for the population. According to the scientific literature, 42–50 % of the female population after extreme stresses has psycho-emotional and neurological disorders [1,2]. The peculiarity of stress and strong emotional experiences is that through the central nervous system, which is the highest coordination center in the system “cortex – hypothalamus – hypophysis – ovaries – uterus”, they affect the function of the ovaries and the reproductive system as a whole [1,2]. Nowadays, these processes are poorly understood and the scientific literature on this problem is very limited.

It is proved that endorphins are produced in the central nervous system during high stress or psycho-emotional strain; they reduce pain and facilitate the perception of negative situations [1,3,4]. This is so-called protective reaction of the organism. But the prolonged release of endorphins in the blood has its negative consequences. An increase in the level of endorphins causes a decrease in the synthesis of another neurotransmitter, dopamine, which increases the formation of corticotropin by the hypothalamus and ad-

renocorticotropin hormone (ACTH) by the hypophysis. The adrenal glands are intensively stimulated under the action of ACTH and the amount of cortisol is increased that can cause hypertension, steroid diabetes, obesity, immunodepressive state etc. Clinically, such patients may develop a hypothalamic syndrome with the appearance, first of all, of menstrual cycle disorders, since the hypothalamic-ovarian system is most sensitive to stress-related changes in the central nervous system. In addition, an elevated level of cortisol blocks follicle maturation, ovulation in the ovaries, which is the cause of anovulatory cycles, amenorrhea, infertility [4–6].

As a result of the increase in endorphins and dopamine depletion, prolactin (PRL) secretion, which is also a stress hormone, is exacerbated. The high concentration of PRL inhibits secretion of gonadotropic hormones of the hypophysis and, as a result, there is a decrease in the synthesis of estrogens and progesterone in the ovaries, that is the cause of menstrual cycle disorders, early ovarian depletion, amenorrhea, infertility, dys hormonal breast diseases, tumors of uterine and ovaries [7–10].

In addition, during the interaction between ecological and genetic factors, inherited defects of the gonadotropin-releasing hormone biology can reduce the threshold at which external stressors suppress the hypothalamic-pituitary-ovarian axis [1,3].

Despite the achievements of modern science, the mechanisms of stress-dependent hormonal implementation at the level of target organs are not sufficiently studied [11,12]. There is no evidence of chronic stress effect on premature ovarian insufficiency [13,14].

## Aim

The aim of the research was a comprehensive study of the hormonal function of pituitary gland, ovaries, thyroid gland and adrenal glands in women of reproductive age with various types of menstrual cycle disorders caused by a prolonged stressful situation.

## Materials and methods

Over the past 3 years, 74 women with complaints of menstrual disorder (the main group), which manifested for the first time after resettlement (return) from the zone of armed conflict, have asked for medical help. Among 74 women, there were 63 migrant women (85.1 %) and 11 servicewomen (14.9 %). All patients were 18–37 years old. The average age of these women was  $27.7 \pm 8.7$  years. The control group consisted of 23 women of reproductive age (19–36 years) who were in a state of psychological comfort and had no menstrual cycle violations. The average age of women in the control group was  $27.2 \pm 7.9$  years.

Randomization of the main group patients to subgroups was conducted taking into account complaints about the absence of menstruation or the presence of vaginal bleeding.

The level of hormones in blood plasma was measured by means of ELISA test system sets (DRG International Inc., USA) by immunosorbent methods. We studied such hormones as luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), PRL, estradiol, progesterone, free testosterone (free T), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), sulfate dehydroepiandrosterone (DHEA-s). Free cortisol (24 urine) was measured by the same ELISA test system sets. Hormonal function of the thyroid gland was also studied: thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT<sub>4</sub>). Thyroid peroxidase antibodies (TPO Ab) were detected by a sequential ELISA method.

In women with preserved menstrual cycle, hormonal examination was carried out at early follicular phase (2–4<sup>th</sup> day of a menstrual cycle). The levels of prolactin, ACTH, cortisol and thyroid hormones did not change during the menstrual cycle, but for the convenience of studied women, these hormones were assayed together with other hormones on day 2–4 of the menstrual cycle.

All women of the main group were subjected to an ultrasound examination of the uterus and ovaries by the Ultrasound scanner General Electric Voluson E8 Expert with an endovaginal transducer 3.0–9.5 MHz. Magnetic resonance imaging and other examinations and consultations were conducted for the main group women according to indications.

Statistical data were processed by means of Excel adapted for medical and biological research. Wilcoxon non-parametric criterion for the paired samples was used for quantitative data comparison before and after the treatment period. When a difference was found, paired comparisons between groups by means of Mann–Whitney test were used. Differences were recognized statistically significant at  $P < 0.05$  [15].

Hormonal examination of the main group women and controls was carried out in Khmelnytskyi Municipal Perinatal Center and Khmelnytskyi Military Hospital between 1.09.2015 and 31.08.2018.

A written informed consent was signed by women who made up the main group and those who volunteered to participate in the study.

## Results

The patients of the main group were randomized to 2 subgroups based on complaints: amenorrhea and abnormal uterine bleeding. Women from the first subgroup (34 people) complained about delay in menstruation from 3 to 6 months – 27 patients (79.4 %), absence of menstruation for 6 months and more – 7 patients (20.6 %). Patients from the second subgroup (40 people) were troubled by frequent menstruation (twice a month) – 14 (35.0 %) patients, duration of menstrual bleeding more than 7 days – 15 women (37.5 %), heavy menstrual bleeding accompanied by clots – 11 patients (27.5 %). Hormone measurements in women of the main group showed a significant imbalance in the main endocrine organs functioning.

A significant ( $P < 0.05$ ) increase in the hypothalamic hormones (FSH – 2 times, LH – 1.9 times, prolactin – 1.6 times) was observed in women of the first subgroup compared to controls, and there was a decrease in the ovarian hormones (except for free T): estradiol – 3.2 times, progesterone – 3.9 times in relation to the control group (Table 1).

A significant 2 times decrease in FT<sub>4</sub> and 1.7 times increase in TPO Ab relative to the control indicated a violation of the thyroid gland function in the patients of this subgroup (Table 2).

A significant 1.6 times increase in ACTH, 1.8 times increase in cortisol (urine) and 1.6 increase in DHEA-s in patients of the first subgroup compared with the control indicated an adrenal dysfunction (Table 3).

The following pathological changes were detected among 34 patients of the first subgroup: the levels of FSH and LH in 18 (52.9 %) patients deviated above the norm. The PRL level in 14 (41.2 %) patients was above the reference value. 16 (47.1 %) patients had a high level of cortisol in daily urine, 13 (38.2 %) patients had an elevated level of ACTH, which is considered to be a stress hormone suppressing the gonadotropic function of the hypophysis and the ovarian function (indirectly). 8 women (23.5 %) had an increased DHEA-s. An increase in TSH and reduction in FT<sub>4</sub> beyond the reference values were observed in 7 patients (20.6 %), 2 (5.9 %) of them showed elevated level of ATPO and 1 patient (2.9 %) had a reduction of TSH and increased FT<sub>4</sub>. In general, among this group of examined women, the hormonal abnormalities were found in 33 women (97.1 %).

Clinically, women of the first subgroup had the following changes: according to ultrasound, the average thickness of the endometrium in women from this group was  $5.7 \pm 0.8$  mm, 1 (2.9 %) patient had an atrophic changes in the endometrium (2.2 mm thickness). A hyperplasia of adrenal tissues was detected in 4 patients (11.8 %) during the ultrasonography of the adrenal glands; they also had an elevated level of ACTH. Microadenoma (prolactinoma) of the pituitary gland was detected in 1 woman (2.9 %). Hypothyroidism (including subclinical form) was diagnosed for the first time in 7 patients (20.6 %), thyrotoxicosis – 1 (2.9 %), autoimmune thyroiditis – 2 (5.9 %).

Women with amenorrhea lasting more than 6 months, in addition to reproductive abnormalities, had vegetative-vascular and psycho-emotional disorders.

**Table 1.** Reproductive hormones (M ± m)

Hormone, measurement unit	Main group of women (n=74)		Control group (n = 23)	P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
	subgroup 1 (n = 34)	subgroup 2 (n = 40)			
	1	2	3		
FSH, mIU/mL	11.9 ± 2.6	4.8 ± 1.5	5.9 ± 1.3	<0.05	>0.05
LH, mIU/mL	13.4 ± 3.1	7.3 ± 1.8	7.2 ± 1.7	<0.05	>0.05
PRL, ng/mL*	27.3 ± 4.2	24.9 ± 3.5	16.7 ± 3.1	<0.05	<0.05
Estradiol, pg/mL	22.0 ± 4.7	89.2 ± 7.9	70.4 ± 8.5	<0.05	<0.05
Progesterone, ng/mL	0.21 ± 0.1	0.33 ± 0.09	0.82 ± 0.08	<0.05	<0.05
Free T, pg/mL	5.58 ± 0.5	4.59 ± 0.3	4.78 ± 0.3	>0.05	>0.05

\*: reference values according to the laboratory data 4.79–23.3 ng/mL.

**Table 2.** Indicators of the thyroid gland function (M ± m)

Hormone, measurement unit	Main group of women (n = 74)		Control group (n = 23)	P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
	subgroup 1 (n = 34)	subgroup 2 (n = 40)			
	1	2	3		
TSH, mIU/L*	4.8 ± 0.7	4.3 ± 0.6	3.5 ± 0.7	>0.05	>0.05
FT <sub>4</sub> , ng/dL**	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.4 ± 0.1	<0.05	>0.05
TPO Ab, IU/mL	38.4 ± 6.5	34.6 ± 5.8	22.2 ± 6.9	<0.05	>0.05

\*: reference values according to the laboratory data 0.3–4.0 mIU/L; \*\*: reference values according to the laboratory data 0.8–2.0 ng/dL.

**Table 3.** Hormones of the adrenal glands and ACTH (M ± m)

Hormone, measurement unit	Main group (n = 87)		Control group (n = 23)	P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
	subgroup 1 (n=34)	subgroup 2 (n=40)			
	1	2	3		
ACTH, pg/mL*	47.6 ± 8.3	37.4 ± 7.1	29.3 ± 4.7	<0.05	>0.05
Free cortisol (24 urine), mkg/24 hour	177.0 ± 32.5	112.4 ± 27.1	97.6 ± 19.2	<0.05	>0.05
DHEA-S, ng/mL	9.9 ± 1.8	7.7 ± 1.4	6.1 ± 1.2	<0.05	>0.05

\*: reference values according to the laboratory data 1.0–46.3 pg/mL.

We consider these changes as a consequence of the long-term stressful situation in which these women were.

Patients of the second subgroup of the examined women had a significant 1.5 times ( $P < 0.05$ ) increase in prolactin, 1.3 times increase in estradiol and a 2.5 times reduction of progesterone (*Table 1*) compared with the controls. There were no significant ( $P < 0.05$ ) changes detected in the thyroid gland and adrenal glands (*Table 2, 3*); although there was a clear tendency to increase in TSH, ACTH, free cortisol (24 urine) and FT<sub>4</sub> reduction.

After the examination of 40 women of the second subgroup, 33 of them (82.5 %) had estradiol at the control level, 7 patients (17.5 %) had increased estradiol level, progesterone levels in all patients were within the lower limit of normal values. FSH and LH levels were within reference values for all women in this subgroup, but the LH / FSH ratio was  $< 1.5$ . The level of PRL was within the upper normal limit in 31 (77.5 %) women, an elevated PRL level – in 9 (22.5 %) women. 7 (17.5 %) patients of the second subgroup showed an increased level of ACTH and cortisol.

An increase in TSH and reduction of FT<sub>4</sub> from the reference values were observed in 3 patients (7.5 %), an increase in TPO Ab was found in 2 patients (5.0 %). Clinically, according to the ultrasound, hypertrophic changes of the endometrium (thickness of the endometrium –  $20 \pm 4.8$  mm) in 19 patients (47.5 %), adenomyosis – in 4 patients (10 %), rapid growth of myoma – in 1 patient (2.5 %), myoma with the presence of submucous nodes – in 5 (12.5 %) patients of the second subgroup were detected.

A subclinical form of hypothyroidism (according to the levels of TSH and FT<sub>4</sub>) was first diagnosed in 3 patients (7.5 %) and formation of autoimmune thyroiditis (the appearance of TPOAb without thyroid gland function disturbance) was diagnosed in 2 (5.0 %) patients. Anemia of 1 or 2 degree was detected in 19 patients (47.5 %). Pathological changes of hormones were found in 34 (85.0 %) out of 40 examined women.

## Discussion

Consequently, there are complex biochemical processes associated with a negative influence of chronic stress on the central nervous system in a woman's body in a stressful state [2,3]. Mechanisms of menstrual disorders are realized through neurosecretory structures of the brain that regulate tonic and cyclic secretion of gonadotropins. Clinically, these violations are manifested in anovulatory cycles, hyperplastic processes of the endometrium, abnormal uterine bleeding, amenorrhea, endocrine forms of infertility and others [1,8].

Our research shows that a menstrual dysfunction associated with stress-induced hyperprolactinemia occurred in 31.1 % of patients. However, classical hyperprolactinemia is characterized by a decrease in FSH and LH levels and, accordingly, a decrease in estradiol and progesterone [5,7]. In our study, in presence of hyperprolactinemia (subgroup 1), an increase in FSH and LH levels with low peripheral hormones is observed (*Table 1*), which may indicate a disturbance in the hypothalamic-pituitary gland relationship while maintaining

the negative feedback loops of the pituitary-ovarian axis or depletion of the ovaries. Such changes may indicate the depth of the impact of chronic stress on the woman's body and the severe degree of the reproductive system dysfunction.

ACTH and cortisol are also stress hormones which suppress gonadotropins of the pituitary gland and folliculogenesis in the ovaries. Among the examined groups of women, 27.0 % of patients had high ACTH values and 31.1 % – cortisol.

In addition, the 1.7 times increase in TPO Ab in women with stress-induced amenorrhea relative to the control indicates an impairment of immunological tolerance, which in combination with hormonal dysfunction, in fact, can rule out the menstrual cycle at all.

Hormonal disorders were more presented in the group of women with stress-induced amenorrhea than in women with abnormal uterine bleeding. Significant changes were detected according to 10 indicators in the subgroup of women with amenorrhea and in the subgroup of women with abnormal uterine bleeding – according to 3 out of 12 examined hormonal indicators in comparison to the control group. Pronounced hormonal dysfunction was found in 67 (90.5 %) out of 74 examined women with menstrual cycle disorders which appeared after stress.

## Conclusions

1. Thus, out of 74 examined women with menstrual cycle disorders caused by a stressful factor, pronounced hormonal abnormalities were found in 67 women (90.5 %).

2. In women of the main group with stressful amenorrhea, pronounced hormonal disorders were found in 97.1 %, and in women of the main group with abnormal uterine bleeding – in 85.0 %.

3. In the studied women with stress-induced amenorrhea, not inherent to hyperprolactinemia levels of FSH and LH in low peripheral hormones were observed, which may indicate a disturbance in the hypothalamic-pituitary gland relationship while maintaining the negative feedback loops of the pituitary-ovarian axis or ovarian depletion.

4. Thus, post-traumatic stress disorders lead to significant pathological changes not only in the psycho-emotional sphere, but also in the reproductive system of women, suffering from them, and require not only prolonged psychological rehabilitation, but also a serious gynecological examination and treatment. Since both amenorrhea and abnormal uterine bleeding are accompanied by infertility, the problem of rehabilitation of such women acquires both medical and social significance.

**Prospects for further research.** The effect of long-term stress-related factors on the interaction of pituitary hormones: prolactin, FSH and LH, the mechanisms of this interaction, as well as the impact of stress-induced immunological disorders on the hormonal profile of women, require further in-depth studies.

## Funding

The work was carried out within the framework of the scientific research work of National Pirogov Memorial Medical University 2014–2018 on the topic: "Clinical and diagnostic criteria for changes in hormone-dependent organs and systems in perimenopausal and menopausal women" (№ state registration: 0114U003565).

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 11.02.2019  
Після доопрацювання / Revised: 29.07.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 01.08.2019

## Information about authors:

Horbatiuk O. H., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Postgraduate Education, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.  
ORCID ID: 0000-0002-0123-367X

Shatkovska A. S., MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Postgraduate Education, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.  
ORCID ID: 0000-0002-3638-8882

Hryhorenko A. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Postgraduate Education, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.  
ORCID ID: 0000-0003-3184-5359

Vaskiv O. V., MD, Assistant, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Postgraduate Education, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.  
ORCID ID: 0000-0001-6310-5692

Bets I. O., Senior Instructor, National Academy of the State Border Guard Service of Ukraine, Khmelnytskyi.  
ORCID ID: 0000-0001-8241-5493

Kustovska I. M., PhD, Associate Professor, National Academy of the State Border Guard Service of Ukraine, Khmelnytskyi.  
ORCID ID: 0000-0002-1736-5300

Petrash A. I., Senior Instructor, National Academy of the State Border Guard Service of Ukraine, Khmelnytskyi.  
ORCID ID: 0000-0003-0197-5021

Palahniuk M. H., Senior Instructor, National Academy of the State Border Guard Service of Ukraine, Khmelnytskyi.  
ORCID ID: 0000-0003-2495-6325

## Відомості про авторів:

Горбатюк О. Г., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Шатковська А. С., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Григоренко А. П., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Васьків О. В., асистент каф. акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Бец І. О., старший викладач, Національна академія Державної прикордонної служби України імені Богдана Хмельницького, м. Хмельницький, Україна.

Кустовська І. М., канд. пед. наук, доцент, Національна академія Державної прикордонної служби України імені Богдана Хмельницького, м. Хмельницький, Україна.

Петраш А. І., старший викладач, Національна академія Державної прикордонної служби України імені Богдана Хмельницького, м. Хмельницький, Україна.

Палагнюк М. Г., старший викладач, Національна академія Державної прикордонної служби України імені Богдана Хмельницького, м. Хмельницький, Україна.

## Сведения об авторах:

Горбатюк О. Г., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии факультета последипломного образования, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Шатковская А. С., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии факультета последипломного образования, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Григоренко А. П., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии факультета последипломного образования, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.  
Васьків О. В., ассистент каф. акушерства и гинекологии факультета последипломного образования, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Бец И. А., старший преподаватель, Национальная академия Государственной пограничной службы Украины имени Богдана Хмельницкого, г. Хмельницкий, Украина.

Кустовская И. Н., канд. пед. наук, доцент, Национальная академия Государственной пограничной службы Украины имени Богдана Хмельницкого, г. Хмельницкий, Украина.

Петраш А. И., старший преподаватель, Национальная академия Государственной пограничной службы Украины имени Богдана Хмельницкого, г. Хмельницкий, Украина.

Палагнюк М. Г., старший преподаватель, Национальная академия Государственной пограничной службы Украины имени Богдана Хмельницкого, г. Хмельницкий, Украина.

- [15] Kochetov, A. G., Ljang, O. V., Masenko, V. P., Zhirov, I. V., Nakonechnikov, S. N., & Tereshhenko, S. N. (2012). *Metody statisticheskoy obrabotki medicinskih dannyh [Methods of statistical medical data analysis]*. Moscow. [in Russian].

## References

- [1] Hryhorenko, A. P., Shatkovska, A. S., Horbatiuk, O. H., Binkovska, A. M., & Onyshko V. Y. (2016). *Porushennia menstrualnoho tsykladu: amenorei, anomalni matkovi krvotochi [Menstrual disorders: amenorrhea, abnormal uterine bleeding]*. Vinnytsya. [in Ukrainian].
- [2] Kormos, V., & Gaszner, B. (2013). Role of neuropeptides in anxiety, stress, and depression: From animals to humans. *Neuropeptides*, 47(6), 401-419. doi: 10.1016/j.npep.2013.10.014
- [3] Fourman, L., & Fazeli, P. (2015). Neuroendocrine Causes of Amenorrhea – An Update. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(3), 812-824. doi: 10.1210/jc.2014-3344
- [4] Shymanska-Horbatiuk, O. H., Hryhorenko, A. P., & Shatkovska N. S. (2012). Menstrualnyi tsykl i yoho rehuliasiiia [The menstrual cycle and its regulation]. *Medical aspects of women's health*, 4(56), 17-21. [in Ukrainian].
- [5] Meczekalski, B., Katulski, K., Czyzyk, A., Podfigurna-Stopa, A., & Maciejewska-Jeske, M. (2014). Functional hypothalamic amenorrhea and its influence on women's health. *Journal Of Endocrinological Investigation*, 37(11), 1049-1056. doi: 10.1007/s40618-014-0169-3
- [6] Collins, T., & Rompolski, K. L. (2017). Hypothalamic Amenorrhea: Causes, Complications, & Controversies. *Journal of Student Research*, 6(1), 24-32. Retrieved from <https://www.jofsr.org/index.php/path/article/view/288>.
- [7] Genazzani, A., Chierchia, E., Santagni, S., Rattighieri, E., Farinetti, A., & Lanzoni, C. (2010). Hypothalamic amenorrhea: From diagnosis to therapeutical approach. *Annales D'endocrinologie*, 71(3), 163-169. doi: 10.1016/j.ando.2010.02.006
- [8] Manuhin, I. B., Tumilovich, L. G., & Gevorkjan, M. A. (2016). *Ginekologicheskaja jendokrinologija: klinicheskie lekci [Gynecological endocrinology: clinical lectures]* (4th ed.). Moscow. [in Russian].
- [9] Palm-Fischbacher, S., & Ehler, U. (2014). Dispositional resilience as a moderator of the relationship between chronic stress and irregular menstrual cycle. *Journal Of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology*, 35(2), 42-50. doi: 10.3109/0167482x.2014.912209
- [10] Grigorenko, A. P., Shatkovskaja, N. S., Shimanskaja, O. G., & Onyshko, V. Ju. (2013). Sindrom gipertormozhenija gonadotropnoj funkcii gipofiza [Hypertrophy Syndrome of pituitary gonadotropic function]. *Medical aspects of women's health*, 9(73), 22-24. [in Russian].
- [11] Nagma, S., Kapoor, G., Bharti, R., Batra, Ac., Batra, Ar., Aggarwal, A., & Sablok, A. (2015). To Evaluate the Effect of Perceived Stress on Menstrual Function. *Journal of clinical and diagnostic research*, 9(3), QC01-QC03. doi: 10.7860/jcdr/2015/6906.5611
- [12] Hafichuk, N. V. (2013). Optymizatsiia diahnozyky ta likuvannia hipotalamo-hipofizarnoi dysfunktsii u zhinkiv z anovuliatornym bezpliddiam [Optimization of diagnostics and treatment of hypothalamopituitary dysfunction in women with anovulatory infertility]. *Health of woman*, 10(86), 163-168. [in Ukrainian].
- [13] Tatarchuk, T. F., Kosej, N. V., & Tutchenko, T. N. (2017). Prezhdevremennaja nedostatochnost jaichnikov: sindrom ili diaгноз [Premature ovarian insufficiency: a syndrome or diagnosis]. *Reproductive endocrinology*, 2(34), 16-22. doi: 10.18370/2309-4117.2017.34.16-22 [in Russian].
- [14] The ESHRE Guideline Group on POI, Webber, L., Davies, M., Anderson, R., Bartlett, J., & Braat D. et al. (2016). ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Human Reproduction*, 31(5), 926-937. doi: <https://doi.org/10.1093/humrep/dew027>

## Secondary predictors of ovarian hyperstimulation syndrome development

E. M. Aiziatulova\*

Donetsk National Medical University, Lyman, Ukraine

### Key words:

ovarian hyperstimulation syndrome, prognosis, preovulatory follicles, oocytes, estradiol, vascular endothelial growth factor, interleukin-6.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 770–775

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186502

\*E-mail:  
doctor.aiziatulova@  
ukr.net

In the treatment of infertility by the method of fertilization *in vitro*, such a serious complication as ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) can occur. Primary predictors of OHSS development are widely used in practice while selecting controlled ovarian stimulation patterns. The identification and evaluation of secondary predictors of OHSS development is relevant.

**Aim.** To identify and evaluate secondary predictors of OHSS in women at high risk of OHSS.

**Materials and methods.** The study included 240 women at high risk of developing ovarian hyperstimulation syndrome, 63 of these women subsequently developed ovarian hyperstimulation syndrome, and 177 did not. To identify secondary predictors, a number of preovulatory follicles and oocytes was evaluated, estradiol levels, vascular endothelial growth factor (VEGF) and interleukin-6 (IL-6) were defined in the blood serum and follicular fluid.

**Results.** Compared to women without OHSS, there was a statistically significant increase in the number of preovulatory follicles, oocytes, estradiol, VEGF, IL-6 in the blood serum and follicular fluid in OHSS patients. There was a direct correlation between the serum and follicular fluid levels of estradiol ( $r_s = 0.85$ ; 95 % CI 0.80–0.89;  $P < 0.001$ ), VEGF ( $r_s = 0.76$ ; 95 % CI 0.69–0.81;  $P < 0.001$ ) and IL-6 ( $r_s = 0.67$ ; 95 % CI 0.58–0.74;  $P < 0.001$ ). Secondary predictors of OHSS was the number of preovulatory follicles  $\geq 30$  for two ovary (sensitivity – 46.0 %, specificity – 91.0 %), the number of oocytes  $\geq 19$  (sensitivity – 87.3 %, specificity – 97.7 %), serum estradiol levels  $\geq 4800$  pg/ml (sensitivity – 74.6 %, specificity – 96.6 %) and estradiol in follicular fluid –  $\geq 275000$  pg/ml (sensitivity – 98.4 %, specificity – 97.7 %), serum VEGF  $\geq 30$  pg/ml (sensitivity – 76.2 %, specificity – 98.3 %) and VEGF in follicular fluid  $\geq 500$  pg/ml (sensitivity – 87.3 %, specificity – 97.2 %), IL-6 in serum  $\geq 4$  pg/ml (sensitivity – 65.1 %, specificity – 98.9 %) and IL-6 in follicular fluid  $\geq 8.5$  pg/ml (sensitivity – 90.5 %, specificity – 98.3 %), respectively.

**Conclusions.** The predictors of OHSS should be taken into account to reduce the risk of its development. In identifying secondary predictors of OHSS development, it is necessary to use preventive measures consisting in discontinuation of luteal phase support, vitrification of all embryos and their transfer in subsequent thawed cycles.

### Ключові слова:

синдром гіперстимуляції яєчників, предиктори, передовуляторні фолікули, ооцити, естрадіол, судинно-ендотеліальний фактор росту, інтерлейкін-6.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 770–775

## Вторинні предиктори розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників

Е. М. Айзятуллова

Під час лікування безпліддя методом запліднення *in vitro* може виникнути таке важке ускладнення, як синдром гіперстимуляції яєчників (СГЯ). Первинні предиктори розвитку СГЯ широко використовують у практиці, обираючи схеми контрольованої оваріальної стимуляції. Актуальним є виявлення та оцінювання вторинних предикторів розвитку СГЯ.

**Мета роботи** – виявити та оцінити вторинні предиктори розвитку СГЯ в жінок із високим ризиком його розвитку.

**Матеріали та методи.** У дослідженні взяли участь 240 жінок із високим ризиком розвитку СГЯ, у 63 із них згодом розвинувся СГЯ, а у 177 – не розвинувся. Щодо визначення вторинних предикторів, оцінили кількість передовуляторних фолікулів і ооцитів, у сироватці крові та фолікулярній рідині визначили рівні естрадіолу, судинно-ендотеліального фактора росту (VEGF) та інтерлейкіну-6 (IL-6).

**Результати.** У пацієнок із СГЯ порівняно з жінками без СГЯ спостерігали статистично значуще збільшення кількості передовуляторних фолікулів, ооцитів, вмісту естрадіолу, VEGF, IL-6 у сироватці крові та в фолікулярній рідині. Встановили пряму кореляцію між показниками в сироватці крові та фолікулярній рідині вмісту естрадіолу ( $r_s = 0.85$ ; 95 % CI 0.80–0.89;  $p < 0.001$ ), VEGF ( $r_s = 0.76$ ; 95 % CI 0.69–0.81;  $p < 0.001$ ) і IL-6 ( $r_s = 0.67$ ; 95 % CI 0.58–0.74;  $p < 0.001$ ). Вторинними предикторами розвитку СГЯ є кількість передовуляторних фолікулів  $\geq 30$  на два яєчники (чутливість – 46,0 %, специфічність – 91,0 %), число ооцитів  $\geq 19$  (чутливість – 87,3 %, специфічність – 97,7 %), рівень естрадіолу в сироватці крові  $\geq 4800$  пг/мл (чутливість – 74,6 %, специфічність – 96,6 %) та естрадіолу в фолікулярній рідині –  $\geq 275\,000$  пг/мл (чутливість – 98,4 %, специфічність – 97,7 %), VEGF у сироватці крові  $\geq 30$  пг/мл (чутливість – 76,2 %, специфічність – 98,3 %) і VEGF у фолікулярній рідині  $\geq 500$  пг/мл (чутливість – 87,3 %, специфічність – 97,2 %), IL-6 в сироватці крові  $\geq 4$  пг/мл (чутливість – 65,1 %, специфічність – 98,9 %) і IL-6 у фолікулярній рідині  $\geq 8,5$  пг/мл (чутливість – 90,5 %, специфічність – 98,3 %) відповідно.

**Висновки.** Для зниження ризику розвитку СГЯ необхідно враховувати предиктори розвитку цього синдрому. Виявляючи вторинні предиктори розвитку СГЯ, необхідно вживати превентивні заходи, що полягають у скасуванні лютеїнової підтримки, вітрифікації всіх ембріонів і їх перенесенні в наступних розморожених циклах.

## Вторичные предикторы развития синдрома гиперстимуляции яичников

Э. М. Айзятуллова

При лечении бесплодия методом оплодотворения *in vitro* может возникнуть такое тяжелое осложнение, как синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ). Первичные предикторы развития СГЯ широко используют в практике при выборе схем контролируемой оваріальной стимуляции. Актуальными остаются определение и оценка вторичных предикторов развития СГЯ.



**Цель работы** – установить и оценить вторичные предикторы развития СГЯ у женщин с высоким риском его развития.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 240 женщин с высоким риском развития СГЯ, у 63 из этих женщин впоследствии развился СГЯ, а у 177 – нет. Для установления вторичных предикторов оценили количество преовуляторных фолликулов и ооцитов, в сыворотке крови и фолликулярной жидкости определили уровни эстрадиола, сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) и интерлейкина-6 (IL-6).

**Результаты.** У пациенток с СГЯ по сравнению с женщинами без СГЯ отмечено статистически значимое повышение числа преовуляторных фолликулов, ооцитов, содержания эстрадиола, VEGF, IL-6 в сыворотке крови и в фолликулярной жидкости. Отмечена прямая корреляция между показателями в сыворотке крови и фолликулярной жидкости содержания эстрадиола ( $r_s = 0,85$ ; 95 % CI 0,80–0,89;  $p < 0,001$ ), VEGF ( $r_s = 0,76$ ; 95 % CI 0,69–0,81;  $p < 0,001$ ) и IL-6 ( $r_s = 0,67$ ; 95 % CI 0,58–0,74;  $p < 0,001$ ).

Вторичные предикторы развития СГЯ: количество преовуляторных фолликулов  $\geq 30$  на два яичника (чувствительность – 46,0 %, специфичность – 91,0 %), количество ооцитов  $\geq 19$  (чувствительность – 87,3 %, специфичность – 97,7 %), уровень эстрадиола в сыворотке крови  $\geq 4800$  пг/мл (чувствительность – 74,6 %, специфичность – 96,6 %) и эстрадиола в фолликулярной жидкости  $\geq 725000$  пг/мл (чувствительность – 98,4 %, специфичность – 97,7 %), VEGF в сыворотке крови  $\geq 30$  пг/мл (чувствительность – 76,2 %, специфичность – 98,3 %) и VEGF в фолликулярной жидкости  $\geq 500$  пг/мл (чувствительность – 87,3 %, специфичность – 97,2 %), IL-6 в сыворотке крови  $\geq 4$  пг/мл (чувствительность – 65,1 %, специфичность – 98,9 %) и IL-6 в фолликулярной жидкости  $\geq 8,5$  пг/мл (чувствительность – 90,5 %, специфичность – 98,3 %) соответственно.

**Выводы.** Для снижения риска развития СГЯ необходимо учитывать предикторы развития данного синдрома. При установлении вторичных предикторов развития СГЯ необходимо использовать превентивные меры, заключающиеся в отмене лютеиновой поддержки, витрификации всех эмбрионов и их переносе в последующих размороженных циклах.

**Ключевые слова:** синдром гиперстимуляции яичников, предикторы, преовуляторные фолликулы, ооциты, эстрадиол, сосудисто-эндотелиальный фактор роста, интерлейкин-6.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 770–775

Infertility is the most important medico-social problem not only in Ukraine, but throughout the world [1–4]. An effective method of infertility treatment is fertilization in vitro [1,5]. However, its widespread introduction into clinical practice does not only help to solve the problems of infertility, but also can be accompanied by severe complications that threaten the health and even the life of the patient [5,6]. One of these complications is ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) [5–10].

Despite the large number of studies on the given state, up to the present date, there is no perfect strategy that completely eliminates OHSS. At the same time, there are risk factors that can be taken into account in order to reduce the frequency of its development [7–10]. Primary predictors of OHSS development, including the number of antral follicles, antimüllerian hormone levels, polycystic ovary syndrome, OHSS in previous cycles, young age and low body weight in patients are proved by many scientists and already widely used in practice while selecting controlled ovarian stimulation [7–10]. However, despite the implementation of preventive measures, the risk of developing OHSS remains because of the controlled ovarian stimulation. Therefore, identification and evaluation of OHSS secondary predictors allow to develop further tactics of patient treatment that will contribute to the reduction of OHSS cases up to complete elimination.

## Aim

To identify and evaluate secondary predictors of OHSS in women at high risk of OHSS.

## Materials and methods

The study included 240 women at high risk of OHSS development taking into account the primary predictors such as: the number of antral follicles more than 20, the content of antimüllerian hormone 5.5 ng/ml and more, polycystic ovary syndrome, OHSS during previous in vitro fertilization attempts. Subsequently, 63 of these women developed OHSS and 177 did not.

An echographic study was performed using an ultrasound diagnostic system SSA-790A (APLIO-XG) (Toshiba, Japan) with transabdominal and transvaginal convex transducers.

Definition of estradiol, vascular endothelial growth factor (VEGF) and interleukin-6 (IL-6) in the blood serum and follicular fluid were performed on the day of transvaginal follicle puncture. The follicular fluid was obtained from the dominant follicles, centrifuged for 5 minutes and separated from the blood cells. Using the electrochemiluminescent method and the reagents of Roche Diagnostics (Switzerland) company on an automated analyzer Cobas-e411 (Roche Diagnostics, Switzerland), estradiol concentration was determined; by immune-enzyme method using an immune-enzyme reader ImmunoChem-2100 (Hight Tehnology, USA), VEGF was investigated using the reagents of the company “BIO Tech Lab S” (USA) and IL-6 – of “Vector-Best” company (RF).

Statistical processing and the obtained data analysis were performed using the SPSS Statistics 22 software package. Since the most of the variables were not normally distributed, they were represented by the median (Me) and interquartile ranges – 25 and 75 percentiles (25; 75 %). The comparison of indicators between groups was performed using the non-parametric Mann–Whitney U test. To determine the direction and strength of a relationship between the variables the Spearman rank coefficient of correlation ( $r_s$ ) and the 95 % confidence interval (95 % CI) was further calculated.

Binary logistic regression method was used to determine the boundary values of independent variables relative to the probability of OHSS occurrence. The prognostic test sensitivity (true positive result) and the specificity of the test (true negative result) were determined. The ROC-curves were represented. The value, which was diagnosed with a zero degree of prognosis, was depicted in the figures as a diagonal dashed line. Consequently, the more steeply curved ROC-curve (the maximum degree of prediction 1) was, the more accurate was the test results prediction.

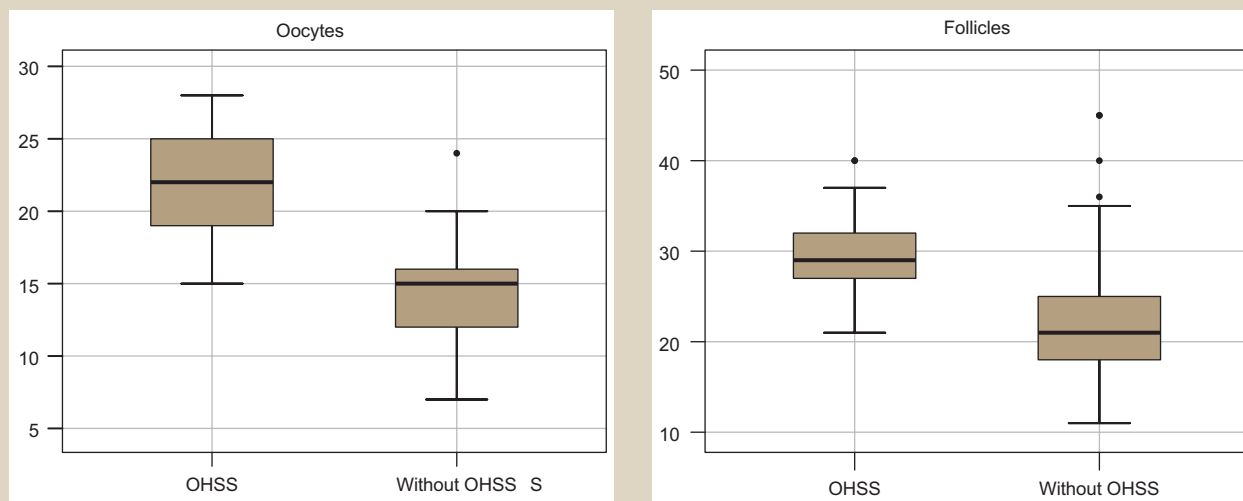


Fig. 1. The number of preovulatory follicles and oocytes in women with and without OHSS.

## Results

While studying the characteristics of the corresponding ovarian response to controlled ovarian stimulation it was found that OHSS women had a statistically significantly higher number of preovulatory follicles than women without OHSS (29 (27; 32) versus 21 (18; 25);  $U = 1475$ ,  $Z = 8.7$ ,  $P < 0.001$ ). The number of punctured follicles oocytes in OHSS women was also significantly higher than in those without OHSS (22 (19; 25) versus 15 (12; 16);  $U = 293$ ,  $Z = 11.2$ ,  $P < 0.001$ ) (Fig. 1).

Determining the levels of biochemical parameters, it was found that estradiol content in OHSS women was statistically significantly higher than in those without OHSS, both in the blood serum (6540 (4730; 8121) pg/ml vs 2977 (2354; 3731) pg/ml;  $U = 238$ ,  $Z = 11.3$ ,  $P < 0.001$ ), and follicular fluid 829000 (775700; 860000) pg/ml vs 268500 (92700; 446500) pg/ml;  $U = 123$ ,  $Z = 11.5$ ,  $P < 0.001$ ). Determination of VEGF content also showed statistically significantly higher indicators in OHSS than without OHSS in the blood serum (58.0 (30.0; 142.8) pg/ml vs (17.5 (13.4; 21.4) pg/ml;  $U = 292$ ,  $Z = 11.2$ ,  $P < 0.001$ ), and follicular fluid (602 (526; 674) pg/ml vs 272 (216; 364) pg/ml;  $U = 373$ ,  $Z = 11.0$ ,  $P < 0.001$ ). A similar pattern was observed in the evaluation of IL-6 content, thus, the indications in OHSS women significantly exceeds those in women without OHSS in the blood serum (4.5 (3.7; 5.0) pg/ml vs 2.9 (2.4; 3.2) pg/ml;  $U = 1014$ ,  $Z = 9.6$ ,  $P < 0.001$ ) and follicular fluid (11.8 (9.4; 18.2) pg/ml vs 6.1 (5.0; 6.8) pg/ml;  $U = 76$ ,  $Z = 11.6$ ,  $P < 0.001$ ) (Fig. 2).

When calculating it was noted that estradiol content in the blood serum was strongly correlated with estradiol content in the follicular fluid ( $r_s = 0.85$ ; 95 % CI 0.80–0.89;  $P < 0.001$ ), the moderate correlation with VEGF ( $r_s = 0.76$ ; 95 % CI 0.69–0.81;  $P < 0.001$ ) and IL-6 ( $r_s = 0.67$ ; 95 % CI 0.58–0.74;  $P < 0.001$ ) was also noted (Fig. 3).

Correlation dependence between the follicular fluid and blood serum variables indicates a tendency to increase or decrease simultaneously, which, according to our opinion, in the case of unavailability of all laboratory values determination, makes it possible to determine only

the indicators available in a particular laboratory, serum or follicular fluid.

By the method of binary logistic regression it was determined that the boundary value in OHSS was the preovulatory follicles number  $\geq 30$  for two ovarian, the sensitivity of the given predictor was 46.0 % and the specificity reached 91.0 %. The number of oocytes obtained after transvaginal puncture is one of the important predictors for OHSS occurrence. It was established that OHSS development could be assumed with the number of oocytes  $\geq 19$  with a sensitivity of 87.3 % and a specificity of 97.7 %.

In the course of a further study it was found that the boundary value for OHSS development was estradiol content in the blood serum  $\geq 4800$  pg/ml and in follicular fluid  $\geq 725\ 000$  pg/ml. The sensitivity for these predictors was 74.6 % and 98.4 %, the specificity was 96.6 % and 97.7 %, respectively.

The next indicator analyzed was VEGF, the boundary value of which for OHSS development corresponded to  $\geq 30$  pg/ml in the blood serum and  $\geq 500$  pg/ml in the follicular fluid. The sensitivity for these predictors was 76.2 % and 87.3 %, the specificity was 98.3 % and 97.2 %, respectively.

By the further analysis determined that the patients with IL-6 level in the blood serum  $\geq 4$  pg/ml and  $\geq 8.5$  pg/ml in the follicular fluid were classified as OHSS category. The sensitivity was 65.1 % and 90.5 %, the specificity – 98.9 % and 98.3 %, respectively.

Developing ROC-curves pointed to the high diagnostic efficiency of the considered predictors (Fig. 4). Thus, the area under the ROC-curve for preovulatory follicles was 0.87 (95 % CI 0.82–0.91), oocytes – 0.97 (95 % CI 0.95–0.99), estradiol content in the blood serum – 0.98 (95 % CI 0.96–0.99), estradiol in the follicular fluid – 0.99 (95 % CI 0.97–1.00), VEGF in the blood serum – 0.97 (95 % CI 0.95–1.00), VEGF in the follicular fluid – 0.97 (95 % CI 0.94–0.99), IL-6 in the blood serum – 0.91 (95 % CI 0.85–0.97), IL-6 in the follicular fluid – 0.99 (95 % CI 0.98–1.00), that is, all figures were approaching 1, 95 % CI, indicating the diagnostic value of the data indicators.

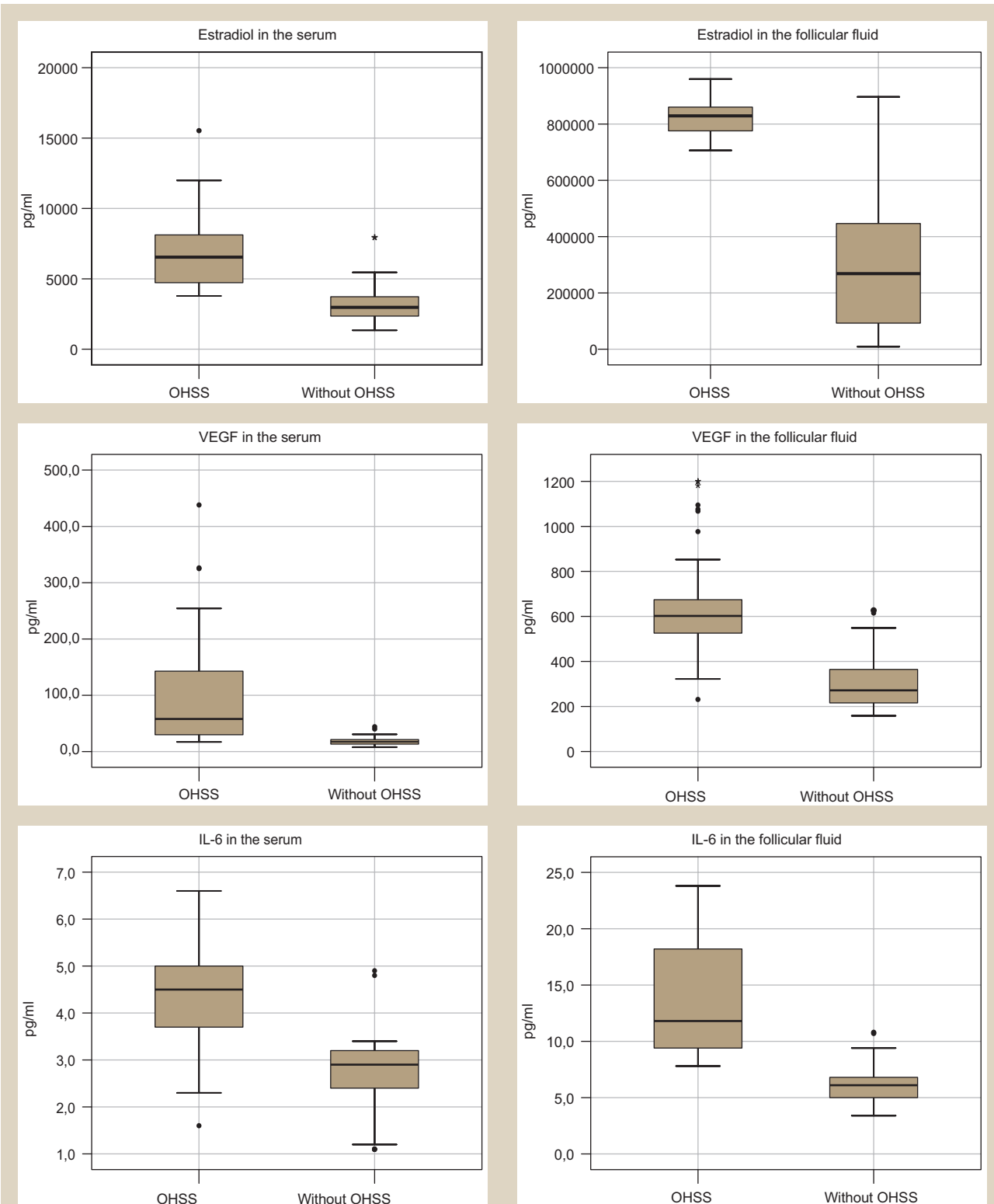


Fig. 2. The content of estradiol, VEGF and IL-6 in the blood serum and follicular fluid in women with and without OHSS.

## Discussion

Thus, on the basis of the conducted study, secondary predictors of OHSS development include: the number of preovulatory follicles  $\geq 30$  per two ovaries, the number of oocytes  $\geq 19$ , the level of estradiol in the blood serum  $\geq 4800$  pg/ml and in the follicular fluid –  $\geq 725000$  pg/ml, VEGF –

$\geq 30$  pg/ml and  $\geq 500$  pg/ml, IL-6 –  $\geq 4$  pg/ml and  $\geq 8,5$  pg/ml, respectively.

In identifying secondary predictors of OHSS development, the main management tactics for such patients is discontinuation of luteal phase support, vitrification of all embryos and their transfer in subsequent thawed cycles.

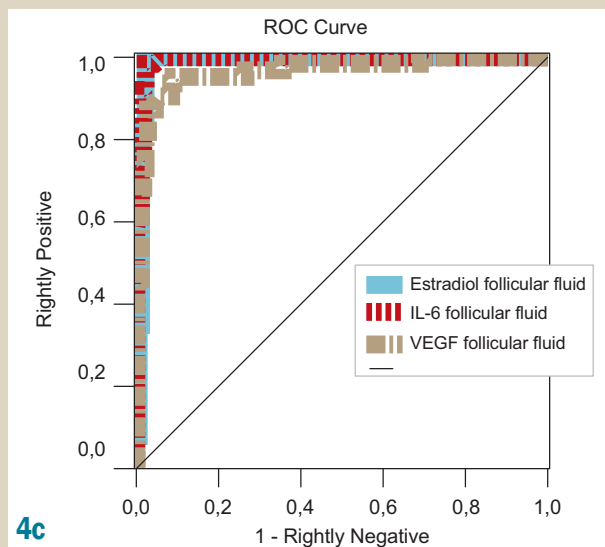
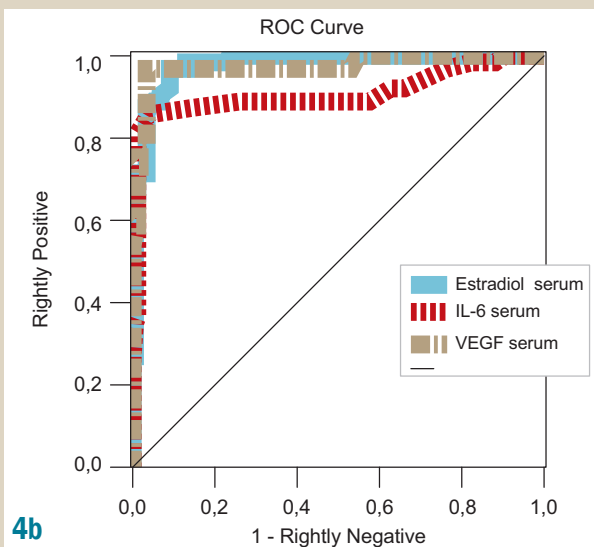
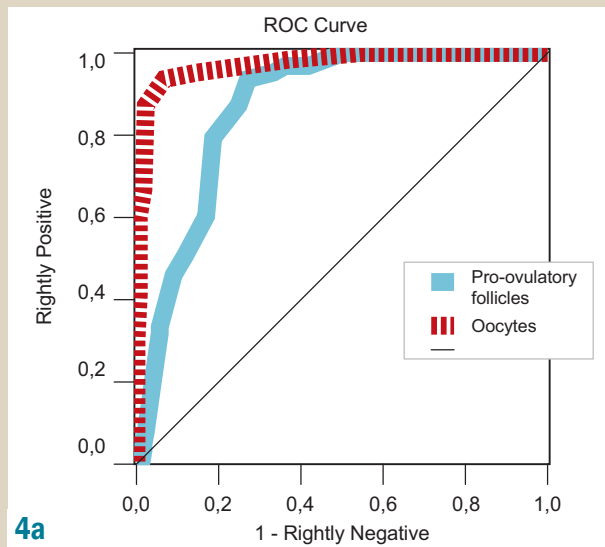
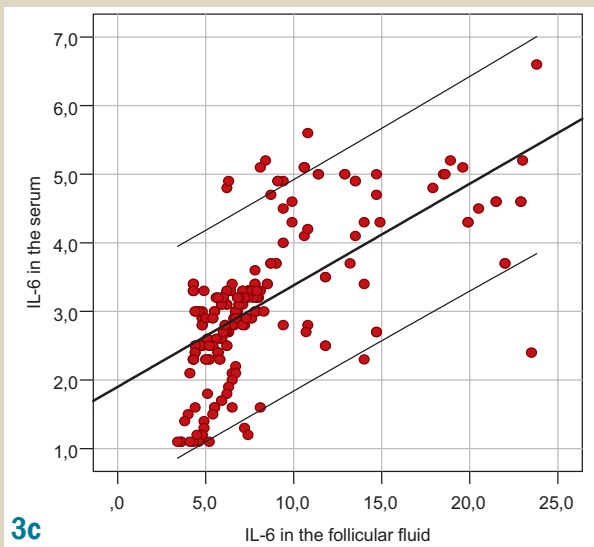
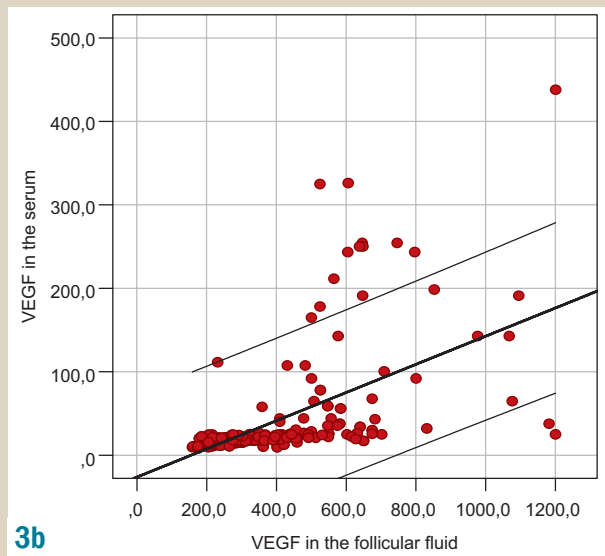
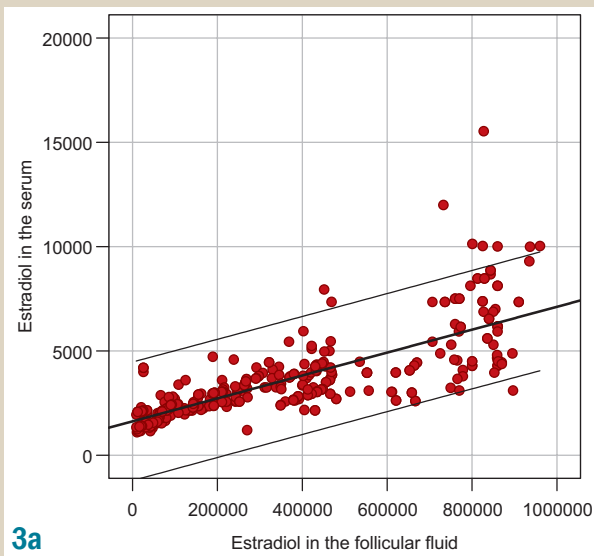


Fig. 3. Correlations between the content of biochemical parameters in the serum and follicular fluid.

Fig. 4. ROC-curves of secondary predictors of OHSS development.

## Conclusions

1. The patients with OHSS demonstrate a statistically significant increase in the number of preovulatory follicles, oocytes, estradiol, VEGF, IL-6 in the blood serum and follicular fluid compared with the women without OHSS.

2. There is a direct correlation between the serum and follicular fluid levels of estradiol ( $r_s = 0.85$ ; 95 % CI 0.80–0.89;  $P < 0.001$ ), VEGF ( $r_s = 0.76$ ; 95 % CI 0.69–0.81;  $P < 0.001$ ) and IL-6 ( $r_s = 0.67$ ; 95 % CI 0.58–0.74;  $P < 0.001$ ).

3. Secondary predictors of OHSS development are the number of preovulatory follicles  $\geq 30$  per two ovaries, the number of oocytes  $\geq 19$ , the level of estradiol in the serum  $\geq 4800$  pg/ml and in the follicular fluid  $\geq 725000$  pg/ml, VEGF  $\geq 30$  pg/ml and  $\geq 500$  pg/ml, IL-6  $\geq 4$  pg/ml and  $\geq 8,5$  pg/ml, respectively.

4. In identifying secondary predictors of OHSS development, the main management tactics for such patients is discontinuation of luteal phase support, vitrification of all embryos and their transfer in subsequent thawed cycles.

**Conflicts of interest:** author has no conflict of interest to declare.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 15.03.2019

Після доопрацювання / Revised: 08.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 23.04.2019

## Information about author:

Aiziatulova E. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Donetsk National Medical University, Lyman, Ukraine.

## Відомості про автора:

Айзятуллова Е. М., д-р мед. наук, професор каф. акушерства та гінекології, Донецький національний медичний університет, м. Лиман, Україна.

## Сведения об авторе:

Айзятуллова Э. М., д-р мед. наук, профессор каф. акушерства и гинекологии, Донецкий национальный медицинский университет, г. Лиман, Украина.

## References

- [1] Yuzko, O. M. (2016). Dopomizhni reproduktyvni tekhnolohii Ukrainy – 25 rokiv uspihku [Assisted reproductive technologies of Ukraine – 25 years of success]. *Zbirnyk naukovykh prats Asotsiatsii akusheriv-hinekologiv Ukrainy*, 2(38), 393-396. [in Ukrainian].
- [2] Datta, J., Palmer, M., Tanton, C., Gibson, L., Jones, K., & Maccowall, W. et al. (2016). Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. *Human Reproduction*, 31(9), 2108-2118. doi: 10.1093/humrep/dew123
- [3] Mirzaei, M., Namirani, N., Dehghani Firouzabadi, R., & Gholami, S. (2018). The prevalence of infertility in 20-49 years women in Yazd, 2014-2015: A cross-sectional study. *International Journal of Reproductive Biomedicine (Yazd)*, 16(11), 683-688.
- [4] Polis, C., Cox, C., Tunçalp, Ö., McLain, A., & Thoma, M. (2017). Estimating infertility prevalence in low-to-middle-income countries: an application of a current duration approach to Demographic and Health Survey data. *Human Reproduction*, 32(5), 1064-1074. doi: 10.1093/humrep/dex025
- [5] De Geyter, C., Calhaz-Jorge, C., Kupka, M., Wyns, C., Mocanu, E., & Motrenko, T. et al. (2018). ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Human Reproduction*, 33(9), 1586-1601. doi: 10.1093/humrep/dey242
- [6] Schenker, J. G. (2013). Complications of Assisted Reproductive Technology. *Giorn. It. Ost. Gin.*, XXXV(1), 110-112.
- [7] Feinberg, E. (2016). Ovarian hyperstimulation: past, present, and future. *Fertility And Sterility*, 106(6), 1330. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.032
- [8] Namavar Jahromi, B., Parsanezhad, M. E., Shomali, Z., Bakhshai, P., Alborzi, M., Moin Vaziri, N., et al. (2018). Ovarian hyperstimulation syndrome: a narrative review of its pathophysiology, risk factors, prevention, classification, and management. *Iran J Med Sci.*, 43(3), 248260.
- [9] Pfeifer, S., Butts, S., Dumesic, D., Fossum, G., Gracia, C., & La Barbera, A. et al. (2016). Prevention and treatment of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. *Fertility And Sterility*, 106(7), 1634-1647. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.048
- [10] Shields, R., Vollenhoven, B., Ahuja, K., & Talmor, A. (2016). Ovarian hyperstimulation syndrome: A case control study investigating risk factors. *Australian And New Zealand Journal Of Obstetrics And Gynaecology*, 56(6), 624-627. doi: 10.1111/ajo.12515

## Bone mineral density and fragility fractures in stroke patients

V. V. Povorozniuk<sup>A,F</sup>, M. A. Bystrytska<sup>B,C</sup>, N. V. Hryhorieva<sup>\*C,D,E</sup>

SI "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine", Kyiv

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

### Key words:

stroke, bone mineral density, osteoporosis, fracture.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (6), 776–782

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186503

\*E-mail: crystal\_ng@ukr.net

**The aim** was to study the parameters of bone mineral density (BMD) and frequency of fragility fractures in males and females with ischemic stroke depending on a side of brain injury and duration of post-stroke period.

**Materials and methods.** We examined 140 patients aged 50–80 years old, divided into 2 groups: I – subjects without any diseases influencing the bone state and II – patients after ischemic stroke. BMD indexes (BMDs) were measured using dual-energy X-ray absorptiometry method.

**Results.** The males with stroke had significantly lower parameters of total body, upper extremity and trunk BMDs compared to indexes of the control group without any differences in lower extremities BMDs in contrast to women with stroke who had lower BMDs of total body, trunk and upper/lower extremities compared to parameters of the control group. Almost all measured BMDs were significantly lower on a paretic side compared to BMDs on a non-paretic side, except distal radius and total lower extremities BMDs in men with stroke in contrast to women who demonstrated significantly lower femoral neck and total femur BMDs compared to the control group. Most BMDs were decreased in females with post-stroke period duration of more than 1 year in contrast to data in men who did not show any BMD differences, except significantly decreased BMD of upper extremities compared to the control group. Fragility fractures were revealed in 21.4 % of patients after stroke (31.8 % in women and 10.0 % in men,  $P < 0.05$ ), their frequency was higher only in women compared to the control group patients.

**Conclusions.** BMDs in stroke patients are lower and frequency of osteoporosis is higher with some sex differences that should be taken into account in their assessment and development of rehabilitation programs for older age subjects.

### Ключові слова:

інсульт, мінеральна щільність кісткової тканини, остеопороз, перелом.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 776–782

## Мінеральна щільність кісткової тканини й низькоенергетичні переломи в пацієнтів після інсульту

В. В. Поворознюк, М. А. Бистрицька, Н. В. Григор'єва

**Мета роботи** – вивчити показники мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) і частоти низькоенергетичних переломів у чоловіків і жінок із перенесеним ішемічним інсультом залежно від боку ураження, тривалості післяінсультного періоду.

**Матеріали та методи.** Обстежили 140 пацієнтів віком 50–80 років, яких поділили на 2 групи: I – особи без будь-яких захворювань, що впливають на стан кісткової тканини, II група – хворі після перенесеного ішемічного інсульту. Показники МЩКТ вимірювали за допомогою методу двоенергетичної рентгенівської абсорбціометрії.

**Результати.** У чоловіків із перенесеним інсультом виявили вірогідно нижчі показники МЩКТ усього скелета, верхніх кінцівок, тулуба порівняно з показниками контрольної групи без значущих відмінностей параметрів МЩКТ нижніх кінцівок; жінки з інсультом мали вірогідно нижчі показники МЩКТ усього скелета, тулуба й верхніх/нижніх кінцівок порівняно з показниками контрольної групи. У чоловіків з інсультом більшість показників МЩКТ із паретичного боку були вірогідно нижчими порівняно з відповідними з непаретичного, крім показника МЩКТ променевої кістки та загального показника МЩКТ нижніх кінцівок; у жінок визначили вірогідно нижчі параметри МЩКТ стегнової кістки та її шийки порівняно з показниками контрольної групи. Більшість показників МЩКТ зменшувалися з тривалістю післяінсультного періоду понад 1 рік у жінок, на відміну від таких даних у чоловіків, в яких вірогідно нижчим був тільки показник МЩКТ верхніх кінцівок. Низькоенергетичні переломи виявили у 21,4 % хворих після інсульту (31,8 % жінок і 10,0 % чоловіків), при цьому їхня частота була вірогідно вищою тільки в жінок порівняно з особами контрольної групи.

**Висновки.** У хворих, які перенесли інсульт, показники МЩКТ вірогідно нижчі, а частота низькоенергетичних переломів є вищою з певними відмінностями за статтю, що мають бути враховані під час оцінювання та розроблення реабілітаційних програм у хворих старших вікових груп.

### Ключевые слова:

инсульт, минеральная плотность костной ткани, остеопороз, перелом.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 776–782

## Мінеральна щільність кісткової тканини й низькоенергетичні переломи в пацієнтів після інсульту

В. В. Поворознюк, М. А. Бистрицька, Н. В. Григор'єва

**Цель работы** – изучить показатели минеральной плотности костной ткани (МПКТ) и частоты низькоенергетических переломов у мужчин и женщин с перенесенным ишемическим инсультом в зависимости от стороны поражения и продолжительности послеинсультного периода.

**Материалы и методы.** Обследовали 140 пациентов в возрасте 50–80 лет, которых разделили на 2 группы: I – лица без каких-либо заболеваний, влияющих на состояние костной ткани, II – больные после перенесенного ишемического инсульта. Показатели МПКТ измеряли с помощью метода двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии.

**Результаты.** У мужчин с перенесенным инсультом установлены достоверно более низкие показатели МПКТ всего скелета, верхних конечностей и туловища по сравнению с показателями контрольной группы без значимых различий параметров МПКТ нижних конечностей; у женщин с инсультом отмечены достоверно более низкие показатели МПКТ всего скелета, туловища и верхних/нижних конечностей по сравнению с показателями контрольной группы. У мужчин с инсультом большинство показателей МПКТ на паретической стороне были достоверно ниже по сравнению с соответствующими на непаретической стороне, за исключением показателя МПКТ лучевой кости и общего показателя МПКТ нижних конечностей. У женщин установлены достоверно более низкие параметры МПКТ бедренной кости и ее шейки по сравнению с показателями контрольной группы. Большинство показателей МПКТ уменьшались при длительности послеинсультного периода более 1 года у женщин, в отличие от таких данных у мужчин, у которых достоверно ниже был только показатель МПКТ верхних конечностей. Низкоэнергетические переломы отмечены у 21,4 % больных после инсульта (31,8 % женщин и 10,0 % мужчин), при этом их частота была достоверно выше только у женщин по сравнению с лицами контрольной группы.

**Выводы.** У больных с перенесенным инсультом показатели МПКТ были достоверно ниже, а частота низкоэнергетических переломов выше с некоторыми различиями в зависимости от пола, которые должны быть учтены при оценке и разработке реабилитационных программ у больных старших возрастных групп.

Stroke and systemic osteoporosis are both important age-related diseases which are associated with increased disability and high risk of mortality [1,2]. Each of them has own prevalence, risk factors and clinical features; however, their combination is life-threatening for elderly patients [3–6].

Various observations and longitudinal studies, which were performed over the past decades, demonstrated progressive bone loss in stroke patients with some gender particularities. Progressive bone loss starts immediately after stroke; however, its mechanisms are fundamentally different in patients with secondary systemic osteoporosis with stroke from postmenopausal ones. Moreover, current evidences demonstrate that the rate of bone loss depends on sex, post-stroke duration, patients' age, stroke severity, falls, preexisting osteoporosis or other reasons [7–10].

Additionally, numerous literature data confirm that patients with stroke have an increased risk of osteoporotic fractures; however, the information about their incidence differs significantly [11–14]. Furthermore, most studies were performed in Western and Asian countries, but studies among the Ukrainian population have not yet been conducted.

## The aim

The aim was to study the parameters of bone mineral density (BMDs) and frequency of fragility fractures in males and females with ischemic stroke depending on a side of brain injury and duration of post-stroke period.

## Materials and methods

The study was conducted at Department of Clinical Physiology and Pathology of Locomotor Apparatus with collaboration of Department of Cerebral Vascular pathology of D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine and was approved by Ethics Committee of the Institute (19.12.2014, protocol № 5). All patients signed informed consent for participation in the study and treatment in the Institute Clinic.

We have performed a cross-sectional case-control research design and have examined 140 patients aged 50–80 years old, who were divided into 2 groups depending on previous stroke: Group I (control) – subjects without any significant states or diseases influencing bone state and metabolism (n = 70, 30 males and 40 females) and Group II – patients with stroke (n = 70, 30 men and 40 women).

Patients of Group I were examined at the Department of Physiology and Pathology of Locomotor Apparatus for bone mineral density without being admitted to a hospital and signed an informed consent to participate in the study of osteoporosis. All patients of Group II were hospitalized to the Department of Cerebral Vascular pathology of D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine for rehabilitation after a stroke. These subjects were advised to participate in a study to examine osteoporosis. Patients who agreed and signed the informed consent to participate in the study were examined in the Department of Physiology and Pathology of Locomotor Apparatus of this institute.

The diagnosis of stroke was confirmed previously by neuroimaging (CT or MRI). Mean duration of post-stroke period did not differ between sex and was  $1.7 \pm 1.9$  years in males and  $1.7 \pm 1.9$  years in females, respectively ( $t = 0.02$ ,  $P = 0.98$ ). All patients had unilateral ischemic stroke. The severity of paresis was established according to NIH Stroke Scale [15]. Mild, moderate and severe degree of paresis was observed in 31.1 %, 44.8 %, 24.1 % of men, respectively. The similar data in women constituted 25.0 %, 45.0 % and 30.0 %.

All patients were standardized by age ( $P > 0.05$  for both groups of men and women, *Table 1*). The parameter of height also did not differ depending on stroke presence in males and females; however, it was higher in men compared to women of both groups. Additionally, we did not find any significant differences in weight and body mass index (BMI) parameter in males and females depending on stroke presence. Characteristics of the patients are presented in *Table 1*.

Bone mineral density of the femoral neck, total femur, lumbar spine, radius (ultradistal, distal and total) and the total body were measured using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) (Prodigy, GEHC Lunar, Madison, WI, USA). Interpretation of DXA results for men and women aged 50 years and older was conducted according to the International Society for Clinical Densitometry recommendations [15] according to the lowest T-score at lumbar spine, proximal femur or femoral neck (normal bone (T-score  $> -1.0$  SD), osteopenia ( $\leq -1.0$ ) T-score  $> (-2.5)$  SD and osteoporosis (T-score  $\leq -2.5$  SD).

We performed the analysis in women and men separately depending on paretic and non-paretic body side and post-stroke duration. An assessment based on the duration of post-stroke periods was performed by dividing the pa-

**Table 1.** Characteristic of patients

Index, units	Group I		Group II		P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
	Men	Women	Men	Women		
Age, years	65.7 ± 6.0	62.2 ± 5.3	66.2 ± 9.2	66.6 ± 9.6	0.83	0.65
Height, m	1.73 ± 0.06	1.62 ± 0.06	1.74 ± 0.06	1.61 ± 0.06	0.27	0.32
Weight, kg	81.9 ± 12.7	78.3 ± 9.8	83.3 ± 13.2	75.8 ± 14.6	0.64	0.32
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	27.5 ± 4.2	29.9 ± 3.8	27.4 ± 4.3	29.4 ± 5.4	0.92	0.56

Data presented as mean ± SD, **Group I:** control group, **Group II:** stroke patients, **P<sub>1</sub>:** differences between the indices in men, **P<sub>2</sub>:** differences between the indices in women.

tients into the following groups: 1 – duration of post-stroke period less than 6 months, 2 – from 6 months to 1 year, 3 – from 1 to 2 years, 4 – post-stroke period more than 2 years.

Presence, localization, mechanism and timing of fracture were determined using specialized questionnaire, which was developed in Ukrainian Scientific Medical Center of Osteoporosis. All information was received from patients by interview. The frequency of fragility fractures was calculated in %.

The statistical analysis was performed using the methods of descriptive statistics. The distribution of all variables was tested using the Shapiro–Wilk test. Inter-group comparisons were made using the Student's t-test, Mann-Whitney U test (for parametric and non-parametric variables) and one-way analysis of variance (ANOVA) with Scheffe test. Continuous parameters were represented at mean (M) ± standard deviation (SD). Differences in the distribution of samples were evaluated using criterion  $\chi^2$  test. The packages of Statistica 10.0 Copyright® StatSoft Inc., 1984–2011 software were used for analysis.

## Results

Analysis of DXA parameters in both groups showed that most BMD indexes (except femoral neck) were significantly higher in men in comparison with similar indexes in women. In addition, all measured BMD parameters (lumbar spine, femoral neck, total hip, radius and total body) in women with stroke were significantly lower compared to similar indexes in the control group. Unlike the findings above, analysis of DXA parameters in men depending on stroke presence demonstrated significant differences only in distal radius and total body BMDs. These indexes were significantly decreased in males with stroke in comparison with similar indexes in the control group, whereas parameters of lumbar spine and femoral neck BMDs did not differ significantly (Table 2).

Osteoporosis, according to ISCD Recommendation [16] ( $\leq -2.5$  SD for men and women aged 50 years and more at lumbar spine/femoral neck/total hip), was registered in stroke persons more frequently than in subjects of the control group ( $\chi^2 = 4.2$ , 95 % confidential interval (CI): 0.3–20.5,  $P < 0.05$ ). Analysis of bone deterioration distribution (norm-osteopenia-osteoporosis) in men with stroke demonstrated that 6.7 % of them had osteoporosis, 50.0 % – osteopenia and 43.3 % had normal BMD in comparison with 0.0, 16.7 % and 83.3 %, respectively in the control group. Also, it was established that 20.0 % of female with stroke had osteoporosis, 47.5 % – osteopenia and 32.5 % had normal BMD in comparison with 7.5 %, 17.5 %, 75.0 %, respectively in the control group.

Analysis of BMD parameters depending on paretic or non-paretic body side revealed more substantial differences in men compared to women after stroke. Almost all measured BMD indexes (Table 3) in males with stroke were significantly lower at paretic side compared to BMD parameters at non-paretic side of body, except distal radius and total lower extremities BMDs. Nevertheless, in females with stroke, only femoral neck and total femur BMD indexes were significantly decreased in comparison with similar BMD parameters in the control group.

Assessment of BMD differences in upper/lower extremities in men depending on side of brain injury showed that differences in paretic upper extremity and control were equal to 11.7 % ( $0.911 \pm 0.149$  versus  $1.032 \pm 0.114$  g/cm<sup>2</sup>,  $t = 4.5$ ,  $P < 0.001$ , respectively), in non-paretic one – 6.7 % ( $0.974 \pm 0.121$  versus  $1.045 \pm 0.118$  g/cm<sup>2</sup>,  $t = 2.8$ ,  $P < 0.05$ , respectively). The same differences in the lower extremities were less pronounced accounting for 4 % at paretic ones ( $1.359 \pm 0.176$  versus  $1.453 \pm 0.112$  g/cm<sup>2</sup>,  $t = 2.0$ ,  $P < 0.05$ , respectively) not significantly differently from non-paretic lower extremity.

The similar indexes in women were more expressed in the lower extremities and represented for these fourth specified parameters 9.8 % ( $0.771 \pm 0.129$  versus  $0.356 \pm 0.116$  g/cm<sup>2</sup>,  $t = 3.4$ ,  $P < 0.001$ , respectively), 8.8 % ( $0.783 \pm 0.134$  versus  $0.859 \pm 0.141$  g/cm<sup>2</sup>,  $t = 2.7$ ,  $P < 0.05$ , respectively), 11.4 % ( $1.122 \pm 0.182$  versus  $1.267 \pm 0.122$  g/cm<sup>2</sup>,  $t = 4.8$ ,  $P < 0.001$ , respectively) and 10 % ( $1.130 \pm 0.152$  versus  $1.264 \pm 0.111$  g/cm<sup>2</sup>,  $t = 5.1$ ,  $P < 0.001$ ), respectively.

The ANOVA-analysis revealed the influence of post-stroke duration on all BMD indexes in females with stroke (lumbar spine:  $F = 5.88$ ,  $p = 0.002$ ; femoral neck:  $F = 6.98$ ,  $P = 0.0008$ ; total femur:  $F = 3.78$ ,  $P = 0.02$ ; upper extremities:  $F = 8.05$ ,  $P = 0.0003$ ; lower extremities:  $F = 3.70$ ,  $P = 0.02$ ; and total body BMDs:  $F = 4.44$ ,  $P = 0.009$ ). The assessment using Scheffe test did not show any significant differences between first two groups (duration of post-stroke period less than 6 months and 6 months-1 year) for all BMD indexes measured. However, the lumbar spine, femoral neck and upper extremities (Fig. 1A) BMDs in women of the 3<sup>d</sup> and 4<sup>th</sup> groups were significantly lower compared to similar indexes of the 2<sup>d</sup> group, whereas BMD parameters in total femur, total body and lower extremities (Fig. 1B) were significantly decreased only in females of the 4<sup>th</sup> group in comparison with same indexes of the 2<sup>d</sup> group.

Fragility fractures were revealed in 14 patients with stroke (20.0 %, 11 females (37.5 % from the all women) and 3 males (10 % from the all men)). Four women with stroke (36.4 % from all fractures in the females) had hip fractures (mean post-stroke duration was  $4.3 \pm 4.0$  years, two of them had moderate paresis and other individuals – severe one), two women (18.2 %, respectively) had vertebral fractures

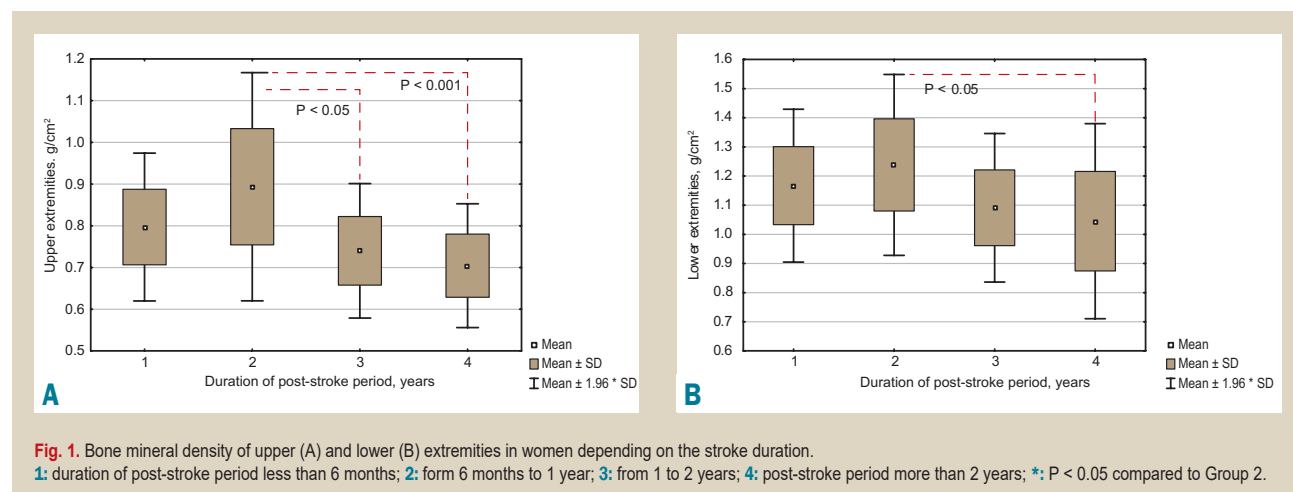


**Table 2.** Bone mineral density indices in patients depending on stroke presence

Index, units	Group I		Group II		P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>
	Men	Women	Men	Women		
L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> : BMD, g/cm <sup>2</sup>	1.30 ± 0.11	1.19 ± 0.19	1.25 ± 0.21	1.06 ± 0.17	0.24	< 0.001
L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> : T-score, SD	0.7 ± 0.9	0.1 ± 1.6	0.3 ± 1.8	-1.0 ± 1.4	0.28	< 0.001
L <sub>1</sub> -L <sub>4</sub> : Z-score, SD	1.0 ± 0.9	1.2 ± 1.5	0.6 ± 1.7	0.1 ± 1.2	0.29	< 0.001
Femoral neck: BMD, g/cm <sup>2</sup>	0.99 ± 0.04	0.99 ± 0.10	0.97 ± 0.17	0.85 ± 0.13	0.52	< 0.001
Femoral neck: T-score, SD	-0.6 ± 0.3	-0.3 ± 0.7	-0.8 ± 1.3	-1.4 ± 0.9	0.55	< 0.001
Femoral neck: Z-score, SD	0.4 ± 0.4	0.9 ± 0.7	0.2 ± 1.2	-0.1 ± 0.7	0.48	< 0.001
Distal radius: BMD, g/cm <sup>2</sup>	0.99 ± 0.07	0.81 ± 0.12	0.95 ± 0.10	0.72 ± 0.13	< 0.05	< 0.001
Distal radius: T-score, SD	-0.1 ± 0.8	-0.8 ± 1.4	-0.5 ± 1.0	-1.9 ± 1.4	0.09	< 0.001
Distal radius: Z-score, SD	0.6 ± 0.8	0.6 ± 1.3	0.2 ± 1.0	-0.3 ± 1.0	0.06	< 0.001
Total body: BMD, g/cm <sup>2</sup>	1.27 ± 0.07	1.17 ± 0.09	1.22 ± 0.12	1.06 ± 0.11	< 0.05	< 0.001
Total body: T-score, SD	0.6 ± 0.8	0.5 ± 1.1	0.1 ± 1.5	-0.8 ± 1.3	0.09	< 0.001
Total body: Z-score, SD	0.8 ± 1.0	1.2 ± 1.0	0.3 ± 1.3	-0.1 ± 1.0	0.09	< 0.001

**Table 3.** Differences in bone mineral density indices between paretic and non-paretic side of body in males and females with stroke, g/cm<sup>2</sup>

Index	Males			Females		
	M ± SD	t	P	M ± SD	t	P
Femoral neck	0.05 ± 0.07	4.02	< 0.001	0.03 ± 0.05	3.84	< 0.001
Ward's triangle	0.06 ± 0.13	2.49	0.02	0.01 ± 0.07	0.50	0.62
Trochanter	0.06 ± 0.11	3.45	0.001	0.01 ± 0.05	1.33	0.19
Total femur	0.05 ± 0.07	4.38	0.0001	0.02 ± 0.05	2.37	0.02
Upper extremities	0.06 ± 0.13	3.04	0.004	0.01 ± 0.09	0.53	0.60
Lower extremities	0.02 ± 0.08	1.84	0.07	0.00 ± 0.06	0.28	0.78
Ultradistal radius	0.05 ± 0.07	3.03	0.007	0.02 ± 0.04	1.71	0.11
Distal radius	0.04 ± 0.08	1.87	0.08	0.01 ± 0.06	0.83	0.42
Total radius	0.03 ± 0.07	2.20	0.04	0.02 ± 0.05	1.72	0.11
Total body	0.02 ± 0.05	2.62	0.01	0.01 ± 0.05	1.76	0.09

**Fig. 1.** Bone mineral density of upper (A) and lower (B) extremities in women depending on the stroke duration.

1: duration of post-stroke period less than 6 months; 2: from 6 months to 1 year; 3: from 1 to 2 years; 4: post-stroke period more than 2 years; \*: P < 0.05 compared to Group 2.

(mean post-stroke duration was  $3.0 \pm 1.4$  years, one of them had moderate and the other had severe paresis). The other 5 females with stroke had low-energy distal radius fractures (41 % of all fractures in women, respectively). In the control group, 9 women (13.6 %) had low-energy fracture (four of them had distal forearm fracture, two women had vertebral fractures and three females had other non-vertebral fractures).

Four men with stroke (10 %) had low-energy fractures (three of them had distal radius fractures (75 %) and one had other non-vertebral fracture (25 %)). In the control group men, three had non-vertebral fractures (5 % from all males).

Men and women with stroke and low-energy fractures did not differ significantly by age (in males and females,  $66.9 \pm 7.3$  та  $64.7 \pm 7.3$  years,  $t = 0.54$ ,  $P > 0.05$ , respectively), duration of post-stroke period ( $1.89 \pm 2.3$  and  $1.7 \pm 1.7$ ,  $t = 1.6$ ,  $P > 0.05$  and severity of paresis ( $2.0 \pm 0.78$  and  $2.1 \pm 0.85$ , Mann-Whitney U Test = 1.05,  $P > 0.05$ ). However, comparative analysis demonstrated that frequency of fragility fractures was higher in women with stroke compared to the control group patients ( $P < 0.05$ ) without significant difference in men. Furthermore, the frequency of low-energy fractures in males with stroke was significantly lower compared to similar parameters in females ( $P < 0.01$ ).

## Discussion

Stroke and systemic osteoporosis, which are associated with a high risk of disability, are both crucial age-related diseases with own prevalence, risk factors and clinical features [1,3,7]. Sex is one of the common risk factor for both pathologies [5,6]. Since the mid 1990s, various cross-sectional and longitudinal studies have been performed in patients after stroke. These studies have confirmed that osteoporosis and its complication (low-trauma fractures) are major challenges for these patients, significant bone loss is detected mainly on the paretic side, depends on the severity of functional deficits, post-stroke duration etc. and more evident in the upper extremities. However, all these studies were performed in various European, American and Asian populations therefore may have some ethnic differences, but studies among the Ukrainian population have not yet been conducted.

Our study is the first one in Ukraine aimed at identifying the features of BMDs and frequency of fragility fractures in a Ukrainian cohort with stroke depending on the side of brain injury and duration of post-stroke period. Our previous studies focused on some particularities of risk factors in stroke patients [17,18], however, they analyzed the parameters of body composition, and did not studied the frequency of osteoporotic fractures.

This research has demonstrated that all measured BMD parameters (lumbar spine, femoral neck, total hip, radius and total body) in women with stroke were significantly lower compared to similar indexes in the control group in contrast to men with stroke who had only significant lower only distal radius and total body BMDs in comparison with the control group confirming sex differences in bone loss in stroke patients and coinciding with the results of other authors [7,9].

Furthermore, the assessment of peripheral body BMD indexes in men with stroke has shown that parameters of upper extremity and particularly in radius were significantly lower than similar indexes in the control group. In addition, males with stroke had significantly lower parameters of trunk, total hip BMD and total body BMDs compared to control indexes without any significant differences in lower extremities BMDs. In contrast, stroke women had lower BMD indexes in trunk and upper / lower extremities in comparison with control parameters.

According to the existing literature data, more pronounced process of bone loss in patients with stroke is present on the paretic side [10]. In stroke patients, BMD rapidly decreased in the paretic upper limb, whereas in the nonparetic one could be increased due to more widely habitual use of it. In addition, BMD of the paretic lower limb could be decreased up to 10 % within 1 year while a relatively smaller decrease was typical for the nonparetic lower limb [10].

Analysis of BMD parameters depending on paretic and non-paretic body side in our patients with stroke has revealed more substantial differences in men compared to women after stroke. Almost all measured BMD indexes were significantly lower on the paretic side compared to BMD parameters on the non-paretic side of body, except distal radius and total lower extremities BMD. In contrast, in women with stroke, only femoral neck and total femur BMD indexes were significantly lower than similar ones in the control group.

Additionally, we have confirmed more pronounced bone loss in the upper extremities compared to the lower ones in men (11.7 % and 4.0 % in paretic side, respectively), which is consistent with the results of other authors without any differences in the rate of bone loss depending on upper/lower limbs in women that require further longitudinal studies to assess gender features of osteoporosis development.

According to some literature data, the length of the post-stroke period is another important factor for bone loss [1,7]. Bone loss starts immediately following brain injury and progressively increases during 3–4 months. Then bone loss progresses slowly until the end of the first year after stroke. After that, the rate of bone loss decreases and reaches some stable condition of permanent bone loss with subsequent high risk of fractures.

Furthermore, our research has demonstrated that most BMD indexes were decreased in females with post-stroke period duration of 1 year and more ( $L_1-L_4$ , femoral neck, total femur, total body and upper/lower extremities and trunk) in contrast to the data in men who did not show any significant differences in BMD indexes, except the upper extremities BMDs, which were significantly lower compared to the control group.

Fragility fractures are the dangerous complication of systemic osteoporosis. The risk of osteoporotic fracture increases with post-stroke duration, age of patients (old age), female sex, stroke severity, a positive history of previous fractures or falls, preexisting osteoporosis and concomitant diseases (rheumatoid arthritis, hyperparathyroidism, etc.) [11,13,19]. Despite the prevalent bone loss in the upper extremities in patients with stroke, literature review has demonstrated that hip fracture is the most common osteoporotic fracture [12,13,19].

The retrospective analysis of Swedish register [13] that analyzed the data of patients from 1987 to 1996 years (273 000 individuals were hospitalized with stroke) showed that the risks of low-trauma fractures were higher in women than in men. This risk decreased with the age of the patient and time since stroke; however it was always higher than age- and sex-matched controls, except for patients over the age of 80 years. The relative risk of any osteoporotic fracture requiring hospitalization immediately with stroke was 3.72 in women aged 50 to 54 years, and the risk for hip fracture was 11.75.

Analysis of Ontario Stroke Registry (23751 patients were hospitalized with stroke in 2003–2012) [13] also showed that 2-years risk for any low-trauma fracture was lower (HR = 1.32, 95 % CI 1.19–1.46), than for hip fracture (HR = 1.57, 95 % CI 1.35–1.83). In addition, females had greater risk of low-trauma fracture than males (HR = 1.72, 95 % CI 1.53–1.94).

Given the wide range of osteoporotic fracture incidence in patients with stroke (from 7 per 1000 person-years in Dennis' et al. study [20] to 32 per 1000 person-years in Andersson' et al. study [19]), it is essential to analyze rate of low-energy osteoporotic fractures in the Ukrainian cohort.

Our study has found out that that frequency of osteoporotic fractures in the Ukrainian population was higher in women with stroke compared to patients of the control group ( $P < 0.05$ ) without significant difference in men. Furthermore, the frequency of low-energy fractures was

significantly lower in males compared to similar parameters in females with stroke. Fragility fractures were revealed in 20.0 % of patients with stroke (37.5 % of all the women and 10 % of all the men). Hip fracture was about 36.4 % of all fractures in women. Among females, 18.2 % of all fractures were vertebral fractures and 45.4 % – distal radius fractures. These fractures are the main osteoporotic complications which have great negative consequences on the quality of life and average mortality even in patients without stroke.

The limitations of our study are cross-sectional design and sample size that did not allow determining the effect of some other stroke-related parameters on bone tissue state. Further large-scale longitudinal studies in men and women are required to find the association between the rate of bone loss, frequency of osteoporotic fractures to better define the bone-preserving strategy for patients with stroke.

## Conclusions

1. The parameters of BMD in the lumbar spine, femoral neck, total hip, radius and total body in stroke women are significantly lower compared to similar indexes in the control group in contrast to stroke men who only have significantly lower parameters of the distal radius and total body BMDs in comparison with the control group.

2. The stroke males have significantly lower parameters of the upper extremity and trunk BMDs compared to indexes in the control group without any significant differences in the lower extremities BMDs in contrast to stroke women who have lower BMD indexes in the trunk and upper/lower extremities in comparison with these parameters in the control group.

3. Almost all measured BMD indexes are significantly lower on the paretic side compared to BMD parameters on the non-paretic side of body, except the distal radius and total lower extremities BMDs in stroke men, in contrast to women who only demonstrate significantly lower parameters of the femoral neck and total femur BMDs compared to the control group.

4. Most of the BMD indexes were decreased in females with post-stroke duration of 1 year and more in contrast to the data in men who did not show any significant differences in the BMD indexes, except significantly lower upper extremities BMDs.

5. The frequency of fragility fractures in stroke patients is 21.4 % (31.8 % in women and 10 % in men,  $P < 0.05$ ); it is higher only in women compared to patients of the control group without any differences in males.

**Prospects for further research.** Further cross-sectional and longitudinal researches devoted to the study of sex-specific bone loss and other risk factors of fragility fractures will allow developing more sophisticated individual approaches to the rehabilitation of stroke patients with concomitant disturbances of bone mineral state.

## Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the assistance of all the members of the Department of Clinical Physiology and Pathology of Locomotor Apparatus of D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine (Kyiv) for DEXA measurement.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 03.04.2019  
Після доопрацювання / Revised: 08.04.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 24.04.2019

## Information about authors:

Povorozniuk V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Physiology and Pathology of Locomotor Apparatus, SI "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine", Kyiv.  
ORCID ID: 0000-0002-9770-4113

Bystrytska M. A., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Clinical Physiology and Pathology of Locomotor Apparatus, SI "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: 0000-0001-7755-1247

Hryhorieva N. V, MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of the Department of Clinical Physiology and Pathology of Locomotor Apparatus, SI "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: 0000-0002-4266-461X

## Відомості про авторів:

Поворознюк В. В., д-р мед. наук, професор, зав. відділу клінічної фізіології та патології опорно-рухового апарату, ДУ «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», м. Київ.

Бистрицька М. А., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу клінічної фізіології та патології опорно-рухового апарату, ДУ «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», м. Київ.

Григор'єва Н. В., д-р мед. наук, професор, провідний науковий співробітник відділу клінічної фізіології та патології опорно-рухового апарату, ДУ «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», м. Київ.

## Сведения об авторах:

Поворознюк В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. отделом клинической физиологии и патологии опорно-двигательного аппарата, ГУ «Институт геронтологии имени Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины», г. Киев.

Быстрицкая М. А., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела клинической физиологии и патологии опорно-двигательного аппарата, ГУ «Институт геронтологии имени Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины», г. Киев.

Григорьева Н. В., д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела клинической физиологии и патологии опорно-двигательного аппарата, ГУ «Институт геронтологии имени Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины», г. Киев.

## References

- Carda, S., Cisari, C., Invernizzi, M., & Bevilacqua, M. (2009). Osteoporosis after stroke: a review of the causes and potential treatments. *Cerebrovascular Diseases*, 28(2), 191-200. doi: 10.1159/000226578
- Laroche, M., Pécourneau, V., Blain, H., Breuil, V., Chapurlat, R., & Cor-tet, B. et al. (2017). Osteoporosis and ischemic cardiovascular disease. *Joint Bone Spine*, 84(4), 427-432. doi: 10.1016/j.jbspin.2016.09.022
- Huo, K., Hashim, S. I., Yong, K. L., Su, H., Qu, Q. M. (2016). Impact and risk factors of post-stroke bone fracture. *World Journal Of Experimental Medicine*, 6(1), 1-8. doi: 10.5493/wjem.v6.i1.1
- Girjajala, R., Sohrabji, F., & Bush, R. (2016). Sex differences in stroke: review of current knowledge and evidence. *Vascular Medicine*, 22(2), 135-145. doi: 10.1177/1358863x16668263
- Ahnstedt, H., McCullough, L., & Cipolla, M. (2016). The importance of considering sex differences in translational stroke research. *Translational Stroke Research*, 7(4), 261-273. doi: 10.1007/s12975-016-0450-1
- Alswat, K. (2017). Gender disparities in osteoporosis. *Journal Of Clinical Medicine Research*, 9(5), 382-387. doi: 10.14740/jocmr.2970w
- Kim, H., Kim, S., Kim, D., Jeong, H., Sim, Y., & Kim, G. (2016). Change of bone mineral density and relationship to clinical parameters in male stroke patients. *Annals Of Rehabilitation Medicine*, 40(6), 981-988. doi: 10.5535/arm.2016.40.6.981

- [8] Schnitzer, T., Harvey, R., Hillary Nack, S., Supanwanid, P., Maskala-Streff, L., & Roth, E. (2012). Bone mineral density in patients with stroke: relationship with motor impairment and functional mobility. *Topics In Stroke Rehabilitation*, 19(5), 436-443. doi: 10.1310/tsr1905-436
- [9] Lee, J., Jeon, H., Park, J., Han, K., Kim, J., & Yoon, J. et al. (2017). Sex differences in the association between stroke and bone mineral density in elderly Koreans: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 2008-2010. *Maturitas*, 95, 1-5. doi: 10.1016/j.maturitas.2016.10.006
- [10] Min, D., Lee, J., Choe, H., Kim, E., Shin, S., & Lee, J. (2016). Comparison of bone density on the dominant and nondominant sides between healthy elderly individuals and stroke patients. *Journal Of Physical Therapy Science*, 28(9), 2533-2536. doi: 10.1589/jpts.28.2533
- [11] Wei, M., Lyu, H., Huo, K., & Su, H. (2018). Impact of bone fracture on ischemic stroke recovery. *International Journal Of Molecular Sciences*, 19(5), 1533. doi: 10.3390/ijms19051533
- [12] Lin, H., Lin, H., Tseng, Y., Liao, H., Worly, J., Pan, C., & Hsu, C. (2014). Hip fracture after first-ever stroke: a population-based study. *Acta Neurologica Scandinavica*, 131(3), 158-163. doi: 10.1111/ane.12301
- [13] Kapral, M., Fang, J., Alibhai, S., Cram, P., Cheung, A., & Casaubon, L. et al. (2016). Risk of fractures after stroke. *Neurology*, 88(1), 57-64. doi: 10.1212/wnl.0000000000003457
- [14] Benzinger, P., Rapp, K., König, H., Bleibler, F., Globas, C., & Beyersmann, J. et al. (2015). Risk of osteoporotic fractures following stroke in older persons. *Osteoporosis International*, 26(4), 1341-1349. doi: 10.1007/s00198-014-3005-x
- [15] *National Institutes of Health Stroke Scale*. Retrieved from [https://www.stroke.nih.gov/documents/NIH\\_Stroke\\_Scale.pdf](https://www.stroke.nih.gov/documents/NIH_Stroke_Scale.pdf).
- [16] *2015 ISCD Official Positions – Adult*. Retrieved from <https://www.iscd.org/official-positions/2015-iscd-official-positions-adult/>
- [17] Bystrytska, M. A. (2018). Mineralna shchilnist kistkovoї tkanyny, zhyrova ta znezhirena masa u patsientiv, yaki perenesly mozkovyi insult [Bone mineral density, fat and lean mass in stroke patient]. *International Neurological Journal*, 5, 66-71. [in Ukrainian].
- [18] Povoroziuk, V. V., Bystrytska, M. A., & Kosheh, N. M. (2018). Osteoporoz u patsientiv, yaki perenesly mozkovyi insult [Osteoporosis in stroke patients]. *TRAUMA*, 19(6), 48-53. doi: 10.22141/1608-1706.6.19.2018.152220
- [19] Andersson, A. G., Seiger, A., & Appelros, P. (2013). Hip fractures in persons with stroke. *Stroke Research And Treatment*, 2013, 954279. doi: 10.1155/2013/954279
- [20] Dennis, M., Lo, K., McDowall, M., & West, T. (2002). Fractures after stroke. *Stroke*, 33(3), 728-734. doi: 10.1161/hs0302.103621

## Предоперационная оценка костного массива медиальной стенки вертлужной впадины в условиях диспластической деформации

А. Е. Лоскутов\*<sup>1,А,Е,Ф</sup>, Е. А. Ковбаса<sup>1,А,В,С,Д</sup>, А. Е. Олейник<sup>1,А,Д,Е,Ф</sup>, В. Г. Стриженый<sup>2,В,С</sup>,  
О. А. Лоскутов<sup>3,А,В</sup>, К. С. Фурманова<sup>4,А,В</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро, <sup>2</sup>КУ «Областная клиническая больница имени И. И. Мечникова», г. Днепро, Украина, <sup>3</sup>ООО «Medinua Clinic & Lab», г. Днепро, Украина, <sup>4</sup>КУ «Днепропетровская областная детская клиническая больница ДООС», г. Днепро, Украина

А – концепция и дизайн исследования; В – сбор данных; С – анализ и интерпретация данных; Д – написание статьи; Е – редактирование статьи; Ф – окончательное утверждение статьи

Одним из ключевых аспектов эндопротезирования тазобедренного сустава (ЭТС) при диспластическом коксартрозе (ДК), обуславливающих долгосрочную стабильность ацетабулярного компонента (АК) и успешность операции, является реконструкция вертлужной впадины (ВВ). Среди параметров, определяющих хирургическую тактику реконструкции ВВ, на первый план выходит костный массив ее медиальной стенки (МС) в проекции формирования имплантационного ложа эндопротеза.

**Цель работы** – оценка состояния костного массива медиальной стенки ВВ в проекции имплантационного ложа АК в норме и при ДК, определение его взаимосвязи с показателями сферичности и секторального дефицита ВВ на основании МСКТ-морфометрии.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное сравнительное МСКТ-морфометрическое исследование 32 тазобедренных суставов без признаков патологии и 65 с ДК (Crowe I – 26 (40,0 %), Crowe II – 23 (35,4 %), Crowe III – 16 суставов (24,6 %)). Оценивали толщину медиальной стенки ВВ в проекции ложа круглой связки и зоны имплантации АК по предложенной методике, корреляцию с показателями краниальной миграции головки бедренной кости, угла сферичности ВВ в горизонтальной плоскости.

**Результаты.** Установлено, что на рутинной рентгенограмме таза в точке, соответствующей центру ложа круглой связки, изображение является проекционным и не соответствует истинному значению толщины кости, определяемому в ходе реконструкции МСКТ-изображения согласно представленной методике. Абсолютная толщина МС ВВ в проекции ложа круглой связки/имплантационного ложа эндопротеза составили: в норме – 4,3 мм [3,3; 4,8] / 7,2 мм [6,2; 7,8], при Crowe I – 9,95 мм [7,5; 11,6] / 11,85 мм [9,8; 13,5], Crowe II – 15 мм [11,7; 17,3] / 15,7 мм [13,5; 17,3], Crowe III – 15,45 мм [13,7; 19,8] / 16,05 мм [12,8; 20,2]. Показатели корреляционной связи толщины МС ВВ в зоне имплантации с показателями краниальной миграции головки и угла сферичности ВВ составили  $r = 0,36$  ( $p = 0,006$ ) и  $r = 0,36$  ( $p = 0,007$ ) соответственно.

**Выводы.** Слабые корреляционные связи толщины медиальной стенки ВВ с показателями сферичности и секторального дефицита ВВ обуславливают необходимость изолированной оценки данного критерия при определении хирургической тактики тотального ЭТС. Исходя из недоступности его оценки с использованием рутинной двухплоскостной рентгенографии, применение МСКТ-морфометрии области тазобедренных суставов по предложенной методике является клинически ценным и рекомендовано к включению в программу предоперационного обследования пациентов с диспластическим коксартрозом.

### Ключевые слова:

эндопротезирование тазобедренного сустава, диспластический коксартроз, ацетабулярный компонент.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 783–789

### DOI:

10.14739/2310-1210.2019.6.186504

### \*E-mail:

LoskutovAE@ukr.net

## Предоперационне оцінювання кісткового масиву медіальної стінки вертлюгової западини в умовах диспластичної деформації

О. Є. Лоскутов, О. О. Ковбаса, О. Є. Олійник, В. Г. Стриженый, О. О. Лоскутов, К. С. Фурманова

Одним із ключових аспектів ендопротезування кульшового суглоба (ЕКС) при диспластичному коксартрозі (ДК), що зумовлюють довгострокову стабільність ацетабулярного компонента (АК) та успішність втручання, є реконструкція вертлюгової западини (ВЗ). Серед параметрів, що визначають хірургічну тактику реконструкції ВЗ, на перший план виходить кістковий масив її медіальної стінки (МС) у проекції формування імплантацийного ложа ендопротеза.

**Мета роботи** – оцінювання стану кісткового масиву медіальної стінки ВЗ у проекції імплантацийного ложа АК у нормі та при ДК, визначення цього взаємозв'язку з показниками сферичності та секторального дефіциту ВЗ, виходячи з даних МСКТ-морфометрії.

**Матеріали та методи.** Здійснили комплексне МСКТ-морфометричне дослідження 32 кульшових суглобів без ознак патології та 65 із ДК (Crowe I – 26 (40,0 %), Crowe II – 23 (35,4 %), Crowe III – 16 суглобів (24,6 %)). Визначали товщину медіальної стінки ВЗ у проекції ложа круглої зв'язки та зони імплантациї АК згідно з запропонованою методикою; кореляцію з показниками краниальної міграції голівки стегнової кістки та кута сферичності ВЗ у горизонтальній площині.

**Результати.** Визначили, що на рутинній рентгенограмі тазу в точці, що відповідає центру ложа круглої зв'язки, зображення проекційне та не відповідає справжньому значенню товщини кістки, що визначається при реконструкції МСКТ-зображення згідно з запропонованою методикою. Абсолютна товщина МС ВЗ у проекції ложа круглої зв'язки/імплантацийного ложа ендопротезу становили: в нормі – 4,3 мм [3,3; 4,8] / 7,2 мм [6,2; 7,8], при Crowe I – 9,95 мм [7,5; 11,6] / 11,85 мм [9,8; 13,5], Crowe II – 15 мм [11,7; 17,3] / 15,7 мм [13,5; 17,3], Crowe III – 15,45 мм [13,7; 19,8] / 16,05 мм [12,8; 20,2]. Показники кореляційного зв'язку товщини МС ВЗ у зоні імплантациї з показниками краниальної міграції голівки та кута сферичності ВЗ становили  $r = 0,36$  ( $p = 0,006$ ) та  $r = 0,36$  ( $p = 0,007$ ) відповідно.

### Ключові слова:

ендопротезування кульшового суглоба, диспластичний коксартроз, ацетабулярний компонент.

### Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 783–789

**Висновки.** Слабкі кореляційні зв'язки товщини медіальної стінки ВЗ із показниками сферичності та секторального дефіциту ВЗ зумовлюють необхідність ізольованого оцінювання цього критерію при визначенні хірургічної тактики ТЕКС. Виходячи з неможливості визначення, використовуючи рутинну двоплощинну рентгенографію, застосування МСКТ-морфометрії ділянки кульшових суглобів згідно з запропонованою методикою – клінічно цінне й рекомендоване до включення в програму передопераційного обстеження пацієнтів із диспластичним коксартрозом.

**Key words:**

hip replacement,  
dysplastic  
coxarthrosis,  
acetabular  
component.

**Zaporozhye**

medical journal  
2019; 21 (6), 783–789

**Preoperative assessment of medial acetabular wall bone stock in dysplastic deformation**

O. Ye. Loskutov, O. O. Kovbasa, O. Ye. Oliinyk, V. H. Stryzhenyi, O. O. Loskutov, K. S. Furmanova

Acetabular reconstruction remains to be one of the crucial aspects of total hip replacement in developmental dysplasia of the hip (DDH) that provides endoprosthesis' long-term stability and general success of the operation. Among the parameters that influence surgical technique of acetabular reconstruction, medial wall bone stock of the endoprosthesis' bed zone should be taken into consideration.

**Purpose of the work** to assess medial wall bone stock in the site of acetabular component's bony bed in normal and dysplastic deformed hips and to define correlation with indices of sphericity and sectoral deficiency of the acetabulum based on MSCT-morphometry.

**Materials and methods.** A complex comparative MSCT-morphometric investigation of 32 normal hips and 65 hips with DDH (Crowe I – 26 hips (40.0 %), Crowe II – 23 hips (35.4 %), Crowe III – 16 hips (24.6 %)) was performed. There were assessed width of the medial wall bone stock in the projection of the crucial ligament's and acetabular component's bony beds according to the proposed method; their correlation with indices of femoral head's cranial migration and acetabular horizontal sphericity angle.

**Results.** It has been revealed that measurements in the site of the crucial ligament's bony bed based on pelvic images obtained by a conventional biplanar X-ray remains to be biased and doesn't correspond to true width of medial acetabular wall bone stock. Absolute width of the medial acetabular wall in sites of the crucial ligament's / acetabular component's bony beds carried out through the special MSCT-reconstruction methodic was defined as: 4.3 mm [3.3; 4.8]/7.2 mm [6.2; 7.8] for normal hips, 9.95 mm [7.5; 11.6]/11.85 mm [9.8; 13.5] for Crowe I hips, 15 mm [11.7; 17.3]/15.7 mm [13.5; 17.3] for Crowe II hips and 15.45 mm [13.7; 19.8]/16.05 mm [12.8; 20.2] for Crowe III hips, respectively. Correlations between medial acetabular wall bone stock in site of acetabular component's bony bed and indices of femoral head's cranial migration and acetabular horizontal sphericity angle were defined as:  $r = 0.36$  ( $P = 0.006$ );  $r = 0.36$  ( $P = 0.007$ ), respectively.

**Conclusions.** Weak correlation of medial acetabular wall bone stock with indices of acetabular sphericity and sectoral deficiency requires the necessity of independent evaluation of this index during preoperative planning. Due to the impossibility of the index assessment based on the conventional pelvic X-ray, application of elaborated MSCT-morphometric methodic seems to be clinically valuable and should be applied during preoperative examination of patients with DDH.

Эндопротезирование тазобедренного сустава (ЭТС) при диспластическом коксартрозе (ДК) – сложное и нестандартное хирургическое вмешательство вследствие технических особенностей выполнения и большой вероятности развития послеоперационных рисков, связанных, в частности, с нестабильностью вертлужного компонента эндопротеза [2,6,9,16,21,25,26]. Одним из ключевых аспектов ЭТС при ДК, определяющих долгосрочную стабильность ацетабулярного компонента (АК) и успешность операции в целом, является реконструкция вертлужной впадины (ВВ), направленная на восстановление нормальных биомеханических соотношений в суставе и адекватного костного покрытия АК. Очевидно, это предполагает установку АК в проекции истинного ложа ВВ, что требует агрессивных хирургических манипуляций на ее медиальной стенке (МС) (медиализация, котикотомия, котилопластика), рекомендуемых рядом ведущих специалистов [2,3,8,10,16]. Успешность упомянутых хирургических манипуляций напрямую определяется точным прогнозированием объективного состояния ложа АК в зоне имплантации для достижения его адекватной фиксации и обеспечения первичной и вторичной стабильности АК, а также предупреждения развития нейроваскулярных осложнений [1,4,6,9,21]. Очевидно, что среди параметров, определяющих хирургическую тактику реконструкции ВВ в зоне имплантации АК, на первый план выходит оценка состояния костного массива медиальной стенки вертлужной впадины

(acetabular medial wall bone stock) в проекции формирования имплантационного ложа АК [2,3,11,17,19]. Исследователи этой проблематики сходны во мнении, что именно всесторонняя оценка зоны имплантации АК в ходе предоперационного планирования при диспластических дефектах и деформациях ВВ является ключом к успеху ТЭТС [11,12,17,21]. Подавляющая часть работ, посвященных изучению зоны имплантации АК, сконцентрированы вокруг показателя истинной толщины медиальной стенки ВВ на уровне ложа круглой связки, что недостаточно полно позволяет оценить морфоимплантационную картину и лишает хирурга возможности полноценного использования техники метода эндопротезирования. Более того, большинство исследований базируются на показателях, полученных в ходе рутинной двухплоскостной рентгенографии, что привносит необъективность в силу погрешностей наложения рентгеновского изображения, укладки пациента и измерений с учетом проекционного увеличения. Работы, посвященные оценке костного массива медиальной стенки ВВ в проекции зоны имплантации АК, носят, в основном, анатомо-морфологический и описательный характер, исследуя тазобедренный сустав в норме без признаков патологии [7,27]. В доступной научной литературе не обнаружили достаточных четких данных о закономерностях изменений данного параметра в условиях ДК, более того, методы его определения нечетки и неоднозначны.

## Цель работы

Оценка состояния костного массива медиальной стенки вертлужной впадины в проекции имплантационного ложа АК в норме и при ДК, определение его взаимосвязи с показателями проксимальной миграции головки бедренной кости, угла сферичности ВВ и угла Виберга как ключевых параметров, определяющих диспластическую деформацию тазобедренного сустава, на основании МСКТ-морфометрического исследования с применением мультипланарной реконструкции.

## Материалы и методы исследования

Проведено комплексное сравнительное МСКТ-морфометрическое исследование тазобедренных суставов без признаков патологии и с диспластическим коксартрозом (I–III типов дисплазии тазобедренных суставов (ТБС) по Crowe).

Группу нормы составили 16 пациентов (32 ТБС) без признаков патологии тазобедренных суставов: 2 мужчин (6,3 %), 14 женщин (93,7 %). Средний возраст пациентов – 52 года (с 95 % ДИ [49; 55]).

Группу патологии ДК составили 49 пациентов (65 тазобедренных суставов): 4 мужчины (8,2 %) и 45 женщин (91,8 %). Средний возраст больных данной группы – 53 года (с 95 % ДИ [50; 55]). В соответствии с классификацией Crowe, I тип ДК отмечен в 26 (40,0 %), II тип – в 23 (35,4 %), III тип – в 16 клинических случаях (24,6 %). Исследуемые группы сопоставимы по основным значимым характеристикам (пол, возраст, рост, вес и др.) ( $p > 0,05$ ).

Расширенная программа предоперационного обследования кроме стандартного клинического, рентгенографического, статометрического исследований и оценки клинико-функционального статуса пациента по шкалам Harris и ВАШ включала проведение МСКТ области пояснично-крестцового отдела позвоночника, таза и тазобедренных суставов на 128-срезовом компьютерном томографе ТМ «General Electrics» с применением протокола исследования «Pelvis». Оценили показатели краниальной миграции головки бедренной кости, угла сферичности ВВ в горизонтальной плоскости, угла Виберга, толщины медиальной стенки ВВ в проекции ложа круглой связки и зоны имплантации [11,12,14,15,18,27].

Абсолютный и относительный показатели краниальной миграции с последующей стратификацией клинических наблюдений по группам исследования определены после двухмерной реконструкции МСКТ-сканов в переднезадней проекции согласно классификации Crowe [15].

Угол сферичности ВВ в горизонтальной плоскости установлен на горизонтальном скане на уровне ложа круглой связки как угол, образованный отрезками, проведенными из переднего и заднего краев ВВ к центру ложа [12,14] (рис. 1). Угол Виберга (centre-edge angle) определен после двухмерной реконструкции МСКТ-сканов в переднезадней проекции по общепринятым топографическим ориентирам [18,22].

Для определения толщины костного массива медиальной стенки ВВ в проекции имплантационного ложа применяли реконструкцию по топограмме, выполненной на уровне центральных отделов ВВ под углом 65°, открытым спереди, образованным сагиттальной осью и линией, проведенной через биомеханический центр

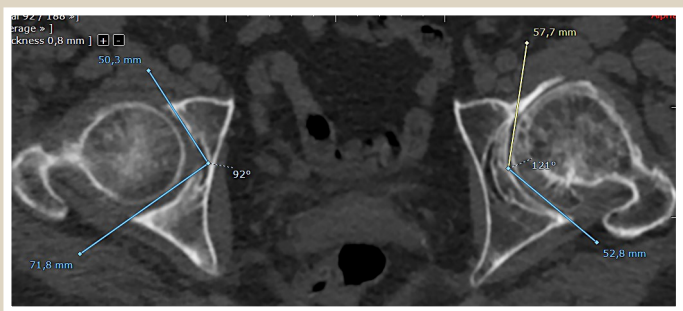


Рис. 1. Определение угла сферичности ВВ в горизонтальной плоскости на МСКТ-скане.

вертлужной впадины [5,13,27]. Дальнейшую реконструкцию выполняли в реформате фронтальной плоскости под углом 30° к горизонтальной оси с измерением толщины медиальной стенки на данном уровне, а также в проекции ложа круглой связки [27].

Обработка КТ-сканов и последующее рентген-морфометрическое исследование проведены при помощи программного комплекса Mugan 2.0.

Статистически данные обрабатывали в среде Microsoft Excel при помощи надстройки AtteStat, а также с помощью программного продукта Statistica 8.0. Проверка нормальности распределения выборки проведена с помощью критерия Шапиро–Уилка. Критический уровень значимости равен 5 % ( $p < 0,05$ ). Описательная статистика представлена в формате Me с 95 % ДИ (асимметричное распределение),  $M \pm t$  (нормальное распределение). Меж- и внутригрупповое сравнения проведены при помощи многофакторного непараметрического ANOVA. Дальнейший апостериорный анализ выполнен по критерию Манна–Уитни с применением поправки на множественные сравнения. Оценка корреляционных связей между группами выполнена согласно критерию Спирмена.

Отбор пациентов в группы наблюдения проведен на базе КУ «Днепропетровская областная клиническая больница имени И. И. Мечникова» Группу нормы составили 16 пациентов (2 мужчин, 14 женщин; средний возраст – 52 года [49; 55]), которым с октября 2016 г. по сентябрь 2018 г. на базе лечебного учреждения выполнено МСКТ области таза и тазобедренных суставов по причинам, не связанным с заболеванием тазобедренных суставов. Данные были предоставлены архивом КУ «ДОКБ имени И. И. Мечникова» по согласованию администрацией лечебного учреждения после получения информированного согласия пациентов на участие в исследовании.

Группу патологии составили 49 пациентов с ДК I–III типов по Crowe (4 мужчины, 45 женщин; средний возраст – 53 года [50; 55]), которым в клинике КУ «ОКБ имени И. И. Мечникова» с января 2017 г. по сентябрь 2018 г. выполнено ЭТС в соответствии с хирургической тактикой, опирающейся на расширенную программу предоперационного обследования, включающую проведение МСКТ области пояснично-крестцового отдела позвоночника, таза и тазобедренных суставов. Информирование согласие пациентов на обработку личных данных в ходе проведения исследования получено.

**Таблица 1.** Показатели костного массива медиальной стенки ВВ группы нормы и патологии в зависимости от типа ДК по Crowe

Исследуемый показатель	Норма	Тип ДК по Crowe		
		I	II	III
Толщина медиальной стенки ВВ (ложе круглой связки)	4,3 мм [3,3; 4,8]	9,95 мм [7,5; 11,6]**	15 мм [11,7; 17,3]**	15,45 мм [13,7; 19,8]*
Толщина медиальной стенки ВВ (имплантационное ложе)	7,2 мм [6,2; 7,8]	11,85 мм [9,8; 13,5]**	15,7 мм [13,5; 17,3]**	16,05 мм [12,8; 20,2]*

\*: статистически значимая разница ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой нормы; \*\*: статистически значимая разница ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой нормы, предыдущей подгруппой.

Критерии исключения из исследования: отказ пациента от участия, невозможность проведения МСКТ-исследования в силу наличия противопоказаний.

### Результаты

Установлено, что на двухмерной МСКТ-топограмме таза (что сопоставимо со стандартной переднезадней рентгенографией) в точке, соответствующей центру ложа круглой связки ВВ, толщина кости являлась проекционной и не соответствовала истинному ее значению, определяемому в ходе реконструкции изображения согласно методике, которая описана выше [27].

Так, средняя погрешность показателя толщины костного массива медиальной стенки ВВ на уровне ложа круглой связки в группе патологии составила 5,6 мм с 95 % ДИ [4,4; 6,8].

В ходе измерений после реконструкции КТ-сканов по предложенной методике среди пациентов группы нормы установлены параметры костного массива ВВ, которые следует рассматривать как эталонные: толщина медиальной стенки ВВ на уровне ложа круглой связки – 4,3 мм с 95 % ДИ [3,3; 4,8], на уровне имплантационного ложа – 7,2 мм с 95 % ДИ [6,2; 7,8]. Отмечена аналогичная тенденция в закономерном увеличении толщины медиальной стенки ВВ как на уровне ложа круглой связки, так и в проекции имплантационного ложа соответственно прогрессированию тяжести ДК (табл. 1, рис. 2а,б). Отмечено статистически значимое увеличение толщины медиальной стенки ВВ как на уровне ложа круглой связки, так и в проекции имплантационного ложа при ДК I–III типов по сравнению с группой нормы ( $p < 0,0001$ ), более динамично – в случае первого показателя (+234 %, +353 %, +364 % против +163 %, +216 %, +221 % соответственно).

Следует отметить, что тенденция к увеличению толщины медиальной стенки в обеих локализациях при сравнении подгрупп ДК II и III не нашла статистического подтверждения ( $p = 0,33$  и  $p = 0,78$ ), что противоречит данным, полученным в ходе антропоморфометрии, основанной на стандартной рентгенографии.

Установлена значительная внутригрупповая дисперсия (показатель эксцесса – 1,04, критерий Шапиро–Уилка –  $p = 0,68$ ) показателя толщины стенки в проекции имплантационного ложа в подгруппе ДК II с граничными значениями – [8,8; 27,0] мм (рис. 3а,б), что указывает на необходимость тщательного предоперационного обследования зоны имплантации АК и внедрения принципов индивидуализации в практику рутинного ТЭТС.

Оценка корреляционных связей толщины костного массива медиальной в зоне имплантации с рутинными показателями, описывающими диспластическую деформацию ВВ (краниальная миграция головки, угол сферичности ВВ), показала наличие слабых связей в каждой из пар (рис. 3а,б).

Учитывая слабую силу полученных корреляционных связей, данные зависимости между исследуемыми показателями не имеют клинического значения. Следовательно, прогнозирование изменений показателя толщины медиальной стенки ВВ в проекции имплантационного ложа на основании степени краниальной миграции головки (типа ДК) и нарушения сферичности ВВ (угол горизонтальной сферичности ВВ) не обоснованно и требует оценки данного показателя изолированно.

### Обсуждение

Без сомнения, реконструкция вертлужной впадины и имплантация ацетабулярного компонента – ключевой и одновременно наиболее технически важный аспект ТЭТС при ДК, определяющий успешность вмешательства [3,6,9,16,21,26]. Поскольку установка чашки эндопротеза выше или латеральнее уровня биомеханического центра вращения сустава считается фактором риска развития нестабильности вертлужного и бедренного компонентов [9,10,21], оптимальна ее имплантация в проекции истинного ложа ВВ [2,8,10,21,26], что, в свою очередь, сопряжено с трудностями ориентации АК и его неполным костным покрытием [3,8–10,21].

Одной из перспективных хирургических техник, позволяющих имплантировать АК на уровне истинного ложа, увеличить площадь покрытия костью-хозяином, обеспечивая тем самым адекватную стабильность и минимизацию износа вкладыша, является медиализация (остеотомия медиальной стенки ВВ) [8,10,26]. Zhang H. et al. указывают, что эта методика позволяет сохранять массив медиальной стенки и целостность собственного костного покрытия [2]. По мнению Th. Karachalios et al.; L. D. Dorr et al.; J. Crowe et al., эти основные преимущества облегчают будущее ревизионное вмешательство при его необходимости [3,9,10]. Единственное противопоказание для применения данной техники – толщина медиальной стенки  $\leq 10$  мм [2]. Пренебрежение данным критическим значением создает опасность перфорации внутренней пластинки подвздошной кости в ходе подготовки имплантационного ложа, что приводит к риску как нейроваскулярных осложнений, так и нестабильности, осевой миграции чашки, а также усталостного перелома медиальной стенки [1,4,6,9].

Научный поиск предыдущих десятилетий в сфере изучения диспластической деформации ВВ и ТЭТС в ее условиях сводился лишь к оценке показателя толщины дна в проекции ложа круглой связки на основании рутинной двухплоскостной рентгенографии, показал результаты в достаточно разрозненных значениях – от 2 мм до 8 мм в норме и от 7 мм до 40 мм в условиях дисплазии (табл. 2) [6,9,10,17,24,25]. Внедрение МСКТ с последующей прецизионной рентгенморфометрией, нацеленное на объективизацию состояния структур



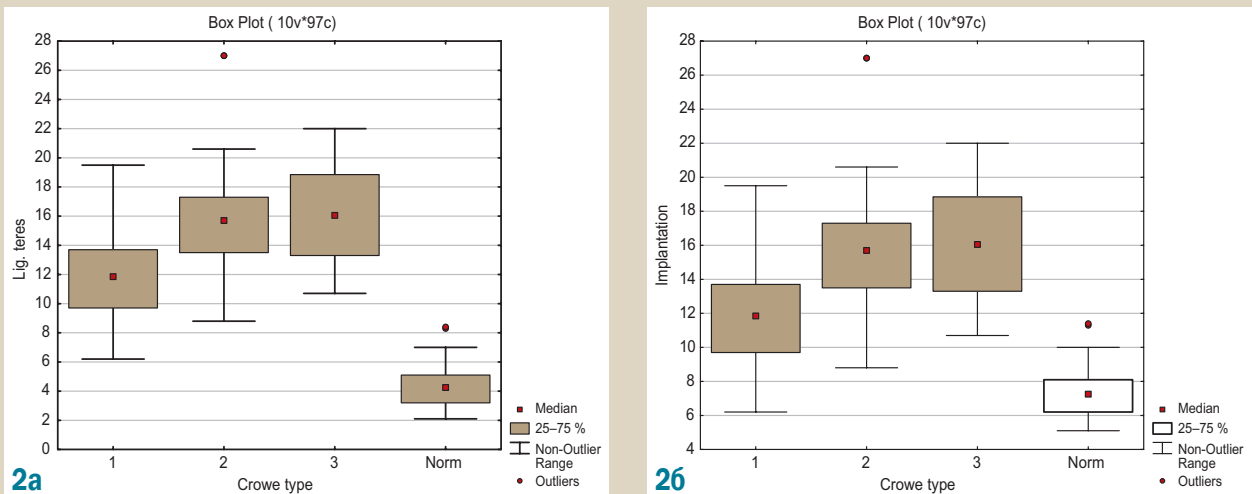


Рис. 2. Значения толщины медиальной стенки ВВ на уровне ложа круглой связки (а) и в проекции имплантационного ложа (б) среди клинических случаев группы нормы и группы патологии в зависимости от типа ДК по Crowe по данным МСКТ-морфометрии.

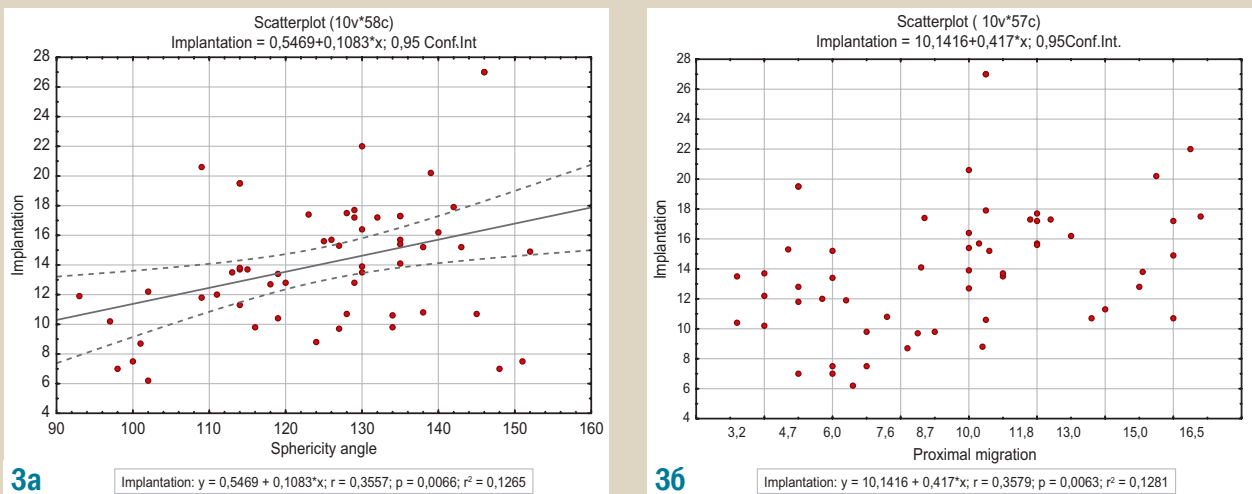


Рис. 3. Диаграммы рассеивания пар показателей среди группы патологии. а: толщина медиальной стенки ВВ в проекции имплантационного ложа – угол горизонтальной сферичности ВВ ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,007$ ); б: толщина медиальной стенки ВВ в проекции имплантационного ложа – краниальная миграция головки ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,006$ ).

ВВ за счет нивелирования погрешностей стандартного рентгенографического исследования, также сохранило несогласованность среди исследователей с вариацией показателей от 1,13 мм [1,08; 8,8] до  $4,80 \pm 0,35$  мм в норме и от  $3,8 \pm 2,1$  мм до 7,17 мм [6,24; 8,11] при Crowe I типа [11,17,22,23]. Это можно пояснить как малым числом наблюдений в ряде работ, отличиями половозрастной структуры выборок, разными подходами к стратификации случаев по тяжести ДК, а также погрешностями методологии определения показателя, обусловленными измерительными программными комплексами. Следует отметить, данные касательно толщины дна ВВ (костного массива медиальной стенки ВВ) непосредственно в проекции формирования имплантационного ложа удалось найти лишь в единичных работах, которые носят анатомо-морфологический характер и основываются на исследовании кадаверного материала [7,23,27]. Данные носят описательный характер и лишены стратификации, удовлетворяющей потребностям ТЭТС.

Ряд авторов сошлись во мнении об отсутствии закономерности изменения костного массива медиальной стенки ВВ соответственно степени краниального смещения головки бедренной кости, что получено на основании МСКТ-морфометрических измерений [11,20]. Более того, утрата сферичности ВВ в ходе прогрессирования тяжести ДК не является прогностическим фактором увеличения толщины ее медиальной стенки [7,20,22]. Оба факта противоречат исследованиям, основанным на рутинной рентген-морфометрии, однако подтверждены в выполненном исследовании. Значительная внутрigrupповая разница показателя толщины стенки в проекции имплантационного ложа при Crowe II типа указывает на значительные клинические риски при ориентации на средневзвешенный показатель в ходе предоперационного планирования. Это обосновывает необходимость проведения тщательного предоперационного обследования зоны имплантации АК при помощи МСКТ и внедрения принципов индивидуализации в практику рутинного ТЭТС.

## Выводы

1. Во время комплексного сравнительного МСКТ-морфометрического исследования костного массива медиальной стенки ВВ установлены абсолютные значения его толщины в проекции ложа круглой связки и имплантационного ложа АК в норме и при диспластической деформации Crowe I–III.

2. Значительная внутригрупповая дисперсия показателя при деформации типа Crowe II обуславливает клинический риск при ориентации на средневзвешенное значение показателя в ходе предоперационного планирования.

3. Слабые корреляционные связи толщины медиальной стенки с показателями сферичности и секторального дефицита ВВ указывают на необходимость изолированной оценки этого критерия при определении хирургической тактики.

4. Исходя из недоступности его оценки с использованием рутинной двухплоскостной рентгенографии, применение МСКТ-морфометрии области тазобедренных суставов по предложенной методике является клинически ценным и требует внедрения в программу предоперационного обследования пациентов с ДК.

**Перспективы дальнейших исследований.** Результаты и закономерности, полученные во время работы, требуют подтверждения в исследовании с большим числом наблюдений, предполагающего рандомизацию. Представляется целесообразной проверка полученных значений толщины медиальной стенки вертлужной впадины при ее диспластической деформации в ходе анатомо-морфологического исследования с применением кадаверного материала.

## Финансирование

Исследование выполнено в рамках НИР ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»: «Разработка новых и усовершенствование существующих методов лечения травм и заболеваний опорно-двигательной системы» (№ государственной регистрации: 0214U002077).

**Конфликт интересов:** отсутствует.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 31.01.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 11.07.2019

## Сведения об авторах:

Лоскутов А. Е., академик НАМН Украины, д-р мед. наук, профессор, зав. каф. ортопедии и травматологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепропетровск.  
Ковбаса Е. А., аспирант каф. ортопедии и травматологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепропетровск.

Олейник А. Е., д-р мед. наук, профессор каф. ортопедии и травматологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепропетровск.

Стрыженый В. Г., врач-рентгенолог, КУ «Областная клиническая больница имени И. И. Мечникова», г. Днепропетровск, Украина.

Лоскутов О. А., канд. мед. наук, врач ортопед-травматолог, ООО «Medinua Clinic & Lab», г. Днепропетровск, Украина.

Фурманова К. С., врач ортопед-травматолог, КЗ «Областная детская клиническая больница ДОС», г. Днепропетровск, Украина.

## Відомості про авторів:

Лоскутов О. Є., академік НАМН України, д-р мед. наук, професор, зав. каф. ортопедії та травматології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Ковбаса О. О., аспірант каф. ортопедії та травматології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Олійник О. Є., д-р мед. наук, професор каф. ортопедії та травматології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Стрижений В. Г., лікар-рентгенолог, КЗ «Обласна клінічна лікарня імені І. І. Мечникова», м. Дніпро, Україна.

Лоскутов О. А., канд. мед. наук, лікар ортопед-травматолог, ТОВ «Medinua Clinic & Lab», м. Дніпро, Україна.

Фурманова К. С., лікар ортопед-травматолог, КЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня ДОС», м. Дніпро, Україна.

## Information about authors:

Loskutov O. Ye., MD, PhD, DSc, Professor, Academician of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Head of the Department of Traumatology and Orthopaedics, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Kovbasa O. O., MD, Postgraduate Student of the Department of Traumatology and Orthopaedics, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Oliinyk O. Ye., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Traumatology and Orthopaedics, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Stryzheniy V. H., MD, Radiologist, MI "Regional Clinical Hospital named after I. I. Mechnikov", Dnipro, Ukraine.

Loskutov O. O., MD, PhD, Orthopaedic surgeon, «Medinua Clinic & Lab», Dnipro, Ukraine.

Furmanova K. S., MD, Orthopaedic surgeon, MI "Regional Pediatric Clinical Hospital", Dnipro, Ukraine.

## Список литературы

- Acetabular anatomy and the relationship with pelvic vascular structures: implications in hip surgery / P. Feugier, M. Fessy, J. Béjui, A. Bouchet. *Surgical And Radiologic Anatomy*. 1997. Vol. 19. Issue 2. P. 85-90.
- Acetabular medial wall displacement osteotomy in total hip arthroplasty: a technique to optimize the acetabular reconstruction in acetabular dysplasia / H. Zhang et al. *The Journal Of Arthroplasty*. 2005. Vol. 20. Issue 5. P. 562-567. doi: 10.1016/j.arth.2005.04.007
- Acetabular reconstruction in patients with low and high dislocation / T. Karachalios, N. Roidis, K. Lampropoulou-Adamidou, G. Hartofilakidis. *The Bone & Joint Journal*. 2013. Vol. 95-B. Issue 7. P. 887-892. doi: 10.1302/0301-620x.95b7.31216
- Barrack, R. Neurovascular injury. *The Journal Of Arthroplasty*. 2004. Vol. 19. Issue 4. P. 104-107. doi: 10.1016/j.arth.2004.02.013
- Bell, A., Brand, R., & Pedersen, D. Prediction of hip joint centre location from external landmarks. *Human Movement Science*. 1989. Vol. 8. Issue 1. P. 3-16. doi: 10.1016/0167-9457(89)90020-1
- Cameron H. U. The technique of total hip arthroplasty. New York : Mosby Year Book, 1992. 409 p.
- Correlation between the Acetabular Diameter and Thickness in Thais / N. Varodompun et al. *Journal Of Orthopaedic Surgery*. 2002. Vol. 10. Issue 1. P. 41-44. doi: 10.1177/230949900201000108
- Cotyloplasty in Cementless Total Hip Arthroplasty for an Insufficient Acetabulum / Kim Y. et al. *Clinics In Orthopedic Surgery*. 2010. Vol. 2. Issue 3. P. 148. doi: 10.4055/cios.2010.2.3.148
- Crowe J. F., Mani V. J., Ranawat C. S. Total hip replacement in congenital dislocation and dysplasia of the hip. *J Bone Joint Surg Am*. 1979. Vol. 61. Issue 1. P. 15-23.
- Medial protrusio technique for placement of a porous-coated, hemispherical acetabular component without cement in a total hip arthroplasty in patients who have acetabular dysplasia / L. D. Dorr et al. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1999. Vol. 81. Issue 1. P. 83-92.
- Evaluation of medial acetabular wall bone stock in patients with developmental dysplasia of the hip using a helical computed tomography multiplanar reconstruction technique / R. Liu *Acta Radiologica*. 2009. Vol. 50. Issue 7. P. 791-797. doi: 10.1080/02841850903049366
- Gejjer M., El-Khoury G. Imaging of the acetabulum in the era of multidetector computed tomography. *Emergency Radiology*. 2007. Vol. 14. Issue 5. P. 271-287. doi: 10.1007/s10140-007-0638-5
- Hip joint center localisation: A biomechanical application to hip arthroplasty population / V. Bouffard et al. *World Journal Of Orthopedics*. 2012. Vol. 3. Issue 8. P. 131. doi: 10.5312/wjo.v3.i8.131

- [14] Imaging evaluation of developmental hip dysplasia in the young adult / L. Beltran et al. *American Journal Of Roentgenology*. 2013. Vol. 200. Issue 5. P. 1077-1088. doi: 10.2214/ajr.12.9360
- [15] Jawad M., Scully S. In Brief: Crowe's Classification: Arthroplasty in Developmental Dysplasia of the Hip. *Clinical Orthopaedics And Related Research*. 2011. Vol. 469. Issue 1. P. 306-308. doi: 10.1007/s11999-010-1316-6
- [16] Karachalios T., Hartofilakidis G. Congenital hip disease in adults. *The Journal Of Bone And Joint Surgery. British Volume*. 2010. Vol. 92-B. Issue 7. P. 914-921. doi: 10.1302/0301-620x.92b7.24114
- [17] Morphological Analysis of True Acetabulum in Hip Dysplasia (Crowe Classes I-IV) Via 3-D Implantation Simulation / Yang, Y. et al. *The Journal Of Bone And Joint Surgery*. 2017. Vol. 99. Issue 17. P. e92. doi: 10.2106/jbjs.16.00729
- [18] Tallroth K., Lepistö J. Computed tomography measurement of acetabular dimensions: Normal values for correction of dysplasia. *Acta Orthopaedica*. 2006. Vol. 77. Issue 4. P. 598-602. doi: 10.1080/17453670610012665
- [19] The medial acetabular wall: normal measurements in different population groups / Stein M. G. et al. *Investigative Radiology*. 1982. Vol. 17. Issue 5. P. 476-478. doi: 10.1097/00004424-198209000-00007
- [20] The relationship between subluxation percentage of the femoro-acetabular joint and acetabular width in asian women with developmental dysplasia of the hip / Okuzu Y. et al. *The Journal Of Bone And Joint Surgery*. 2017. Vol. 99. Issue 7. P. e31. doi: 10.2106/jbjs.16.00444
- [21] Total hip arthroplasty in patients with high dislocation: a concise follow-up, at a minimum of fifteen years, of previous reports / G. Hartofilakidis, T. Karachalios, G. Georgiades, G. Kourlaba. *The Journal Of Bone And Joint Surgery-American Volume*. 2011. Vol. 93. Issue 17. P. 1614-1618. doi: 10.2106/jbjs.j.00875
- [22] Relationship between Wiberg's lateral center edge angle, Lequesne's acetabular index, and medial acetabular bone stock / Werner C. et al. *Skeletal Radiology*. 2011. Vol. 40. Issue 11. P. 1435-1439. doi: 10.1007/s00256-011-1141-3
- [23] Морфометрическое обоснование алгоритма выбора вертлужного компонента эндопротеза при тотальном эндопротезировании тазобедренного сустава с различной степенью выраженности диспластического коксартроза / Е. А. Анисимова и др. *Бюллетень медицинских Интернет-конференций*. 2015. Т. 5. № 7. С. 1007-1011.
- [24] Лебедев В. Ф., Дмитриева Л. А., Арсентьев Л. И. Клинико-рентгенологические особенности диспластического коксартроза III-IV стадии. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2013. № 1. С. 49-53.
- [25] Лоскутов А. Е., Олейник А. Е., Зуб Т. А. Особенности деформации вертлужной впадины при диспластическом коксартрозе с позиции эндопротезирования. *Вестник ортопедии, травматологии та протезирования*. 2011. № 2. 23-28.
- [26] Лоскутов А. Е. Эндопротезирование тазобедренного сустава : монография. Днепропетровск : Лира, 2010. 344 с.
- [27] Меньщикова И. А., Волокитина Е. А., Нецветов П. В. Анатомо-рентгенологическое обоснование оптимальной имплантации вертлужного компонента в случаях сложного эндопротезирования. *Гений Ортопедии*. 2003. № 1. С. 17-20.
- [9] Crowe, J. F., Mani, V. J., & Ranawat, C. S. (1979). Total hip replacement in congenital dislocation and dysplasia of the hip. *J Bone Joint Surg Am.*, 61(1), 15-23.
- [10] Dorr, L. D., Jawakkol, S., Moorthy, M., Long, W., & Wan, Z. (1999). Medial protrusion technique for placement of a porous-coated, hemispherical acetabular component without cement in a total hip arthroplasty in patients who have acetabular dysplasia. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 81(1), 83-92.
- [11] Liu, R., Wang, K., Wang, C., Dang, X., & Tong, Z. (2009). Evaluation of medial acetabular wall bone stock in patients with developmental dysplasia of the hip using a helical computed tomography multi-planar reconstruction technique. *Acta Radiologica*, 50(7), 791-797. doi: 10.1080/02841850903049366
- [12] Geijer, M., & El-Khoury, G. (2007). Imaging of the acetabulum in the era of multidetector computed tomography. *Emergency Radiology*, 14(5), 271-287. doi: 10.1007/s10140-007-0638-5
- [13] Bouffard, V., Begon, M., Champagne, A., Farhadnia, P., Vendittoli, P. A., Lavigne, M., & Prince, F. (2012). Hip joint center localisation: A biomechanical application to hip arthroplasty population. *World Journal Of Orthopedics*, 3(8), 131-136. doi: 10.5312/wjo.v3.i8.131
- [14] Beltran, L., Rosenberg, Z., Mayo, J., De Tuesta, M., Martin, O., Neto, L., & Bencardino, J. (2013). Imaging evaluation of developmental hip dysplasia in the young adult. *American Journal Of Roentgenology*, 200(5), 1077-1088. doi: 10.2214/ajr.12.9360
- [15] Jawad, M., & Scully, S. (2011). In Brief: Crowe's Classification: Arthroplasty in Developmental Dysplasia of the Hip. *Clinical Orthopaedics And Related Research*, 469(1), 306-308. doi: 10.1007/s11999-010-1316-6
- [16] Karachalios, T., & Hartofilakidis, G. (2010). Congenital hip disease in adults. *The Journal Of Bone And Joint Surgery. British Volume*, 92-B(7), 914-921. doi: 10.1302/0301-620x.92b7.24114
- [17] Yang, Y., Zuo, J., Liu, T., Xiao, J., Liu, S., & Gao, Z. (2017). Morphological Analysis of True Acetabulum in Hip Dysplasia (Crowe Classes I-IV) Via 3-D Implantation Simulation. *The Journal Of Bone And Joint Surgery*, 99(17), e92. doi: 10.2106/jbjs.16.00729
- [18] Tallroth, K., & Lepistö, J. (2006). Computed tomography measurement of acetabular dimensions: Normal values for correction of dysplasia. *Acta Orthopaedica*, 77(4), 598-602. doi: 10.1080/17453670610012665
- [19] Stein, M. G., Barmer, E., Levin, J., Dubowitz, B., & Roffman, M. (1982). The medial acetabular wall: normal measurements in different population groups. *Investigative Radiology*, 17(5), 476-478. doi: 10.1097/00004424-198209000-00007
- [20] Okuzu, Y., Goto, K., Kawata, T., So, K., Kuroda, Y., & Matsuda, S. (2017). The relationship between subluxation percentage of the femoroacetabular joint and acetabular width in asian women with developmental dysplasia of the hip. *The Journal Of Bone And Joint Surgery*, 99(7), e31. doi: 10.2106/jbjs.16.00444
- [21] Hartofilakidis, G., Karachalios, T., Georgiades, G., & Kourlaba, G. (2011). Total hip arthroplasty in patients with high dislocation: a concise follow-up, at a minimum of fifteen years, of previous reports. *The Journal Of Bone And Joint Surgery-American Volume*, 93(17), 1614-1618. doi: 10.2106/jbjs.j.00875
- [22] Werner, C., Copeland, C., Ruckstuhl, T., Stromberg, J., Turen, C., & Bouaicha, S. (2011). Relationship between Wiberg's lateral center edge angle, Lequesne's acetabular index, and medial acetabular bone stock. *Skeletal Radiology*, 40(11), 1435-1439. doi: 10.1007/s00256-011-1141-3
- [23] Анисимова, Е. А., Jusupov, K. S., Anisimov, D. I., Popryga, D. V., & Popov, A. N. (2015). Морфометрическое обоснование алгоритма выбора вертлужного компонента эндопротеза при тотальном эндопротезировании тазобедренного сустава с различной степенью выраженности диспластического коксартроза [Morphometric justification selection algorithm endoprosthesis acetabular component in total hip arthroplasty varying severity dysplastic coxarthrosis]. *Bulletin of Medical Internet Conferences*, 5(7), 1007-1011. [in Russian].
- [24] Лебедев, В. Ф., Дмитриева, Л. А., & Арсентьев, Л. И. (2013). Клинико-рентгенологические особенности диспластического коксартроза III-IV стадий [Clinicodiagnostic peculiarities of dysplastic coxarthrosis of III-IV degree]. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center SBRAMS*, 1(89), 49-53. [in Russian].
- [25] Лоскутов, А. Е., Олейник, А. Е., Зуб, Т. А. (2011). Особенности деформации вертлужной впадины при диспластическом коксартрозе с позиции эндопротезирования [The features of deformation in dysplastic hip arthritis from the position of hip replacement]. *Journal of Orthopedics, Traumatology and Prosthetics*, 2, 23-28. [in Russian].
- [26] Лоскутов, А. Е. (2010). Эндопротезирование тазобедренного сустава [Hip replacements]. Днепропетровск. [in Russian].
- [27] Меньщикова, И. А., Волокитина, Е. А., Нецветов, П. В. (2003). Анатомо-рентгенологическое обоснование оптимальной имплантации вертлужного компонента в случаях сложного эндопротезирования [Anatomic-and-roentgenological substantiation of acetabular component optimal implantation in cases of complex endoprosthesis]. *Genius of Orthopaedics*, 1, 17-20. [in Russian].

## References

- [1] Feugier, P., Fessy, M., Béjui, J., & Bouchet, A. (1997). Acetabular anatomy and the relationship with pelvic vascular structures implications in hip surgery. *Surgical And Radiologic Anatomy*, 19(2), 85-90. doi: 10.1007/bf01628131
- [2] Zhang, H., Huang, Y., Zhou, Y., Zhou, Y., Lv, M., & Jiang, Z. (2005). Acetabular Medial Wall Displacement Osteotomy in Total Hip Arthroplasty. *The Journal Of Arthroplasty*, 20(5), 562-567. doi: 10.1016/j.arth.2005.04.007
- [3] Karachalios, T., Roidis, N., Lampropoulou-Adamidou, K., & Hartofilakidis, G. (2013). Acetabular reconstruction in patients with low and high dislocation. *The Bone & Joint Journal*, 95-B(7), 887-892. doi: 10.1302/0301-620x.95b7.31216
- [4] Barrack, R. (2004). Neurovascular injury. *The Journal Of Arthroplasty*, 19(4), 104-107. doi: 10.1016/j.arth.2004.02.013
- [5] Bell, A., Brand, R., & Pedersen, D. (1989). Prediction of hip joint centre location from external landmarks. *Human Movement Science*, 8(1), 3-16. doi: 10.1016/0167-9457(89)90020-1
- [6] Cameron, H. U. (1992). *The technique of total hip arthroplasty*. New York: Mosby Year Book.
- [7] Varodompun, N., Thinley, T., Visutipol, B., Ketmalasiri, B., & Patarabunjerd, N. (2002). Correlation between the Acetabular Diameter and Thickness in Thais. *Journal Of Orthopaedic Surgery*, 10(1), 41-44. doi: 10.1177/230949900201000108
- [8] Kim, Y., Nam, K., Yoo, J., Kim, Y., & Kim, H. (2010). Cotyloplasty in Cementless Total Hip Arthroplasty for an Insufficient Acetabulum. *Clinics In Orthopedic Surgery*, 2(3), 148. doi: 10.4055/cios.2010.2.3.148

# Clinical study of a method for the receptor apparatus of the teeth protection at the stages of treatment with non-removable prosthesis designs

O. V. Voznyi\*<sup>1,E,F</sup>, I. V. Yanishen<sup>2,A,C</sup>, I. L. Diudina<sup>2,A,B</sup>, V. H. Tomilin<sup>2,B,E</sup>, A. V. Pohorila<sup>2,D,E</sup>

<sup>1</sup>Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, <sup>2</sup>Kharkiv National Medical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

## Key words:

receptor apparatus, intact teeth, electroodontometry, mastication, protection technique, light-curing adhesive, antihomotoxic drug.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (6), 790–794

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186596

\*E-mail: aleksandrvoznny.1965@gmail.com

This article presents the results of clinical approbation of our proposed method for protecting the receptor apparatus of the teeth through a complex of domestic light-curing adhesive preparations and antihomotoxic drug "Traumeel", the application of which was substantiated by experimental studies in laboratory animals.

**The purpose** of the study was to confirm clinically the experimentally obtained results to protect the receptor apparatus of the teeth by using the antihomotoxic drug combined with the domestic light-curing adhesive.

**Materials and methods.** The method was tested in 72 patients, of whom 57 were the main group and 15 were controls. They were divided into 3 subgroups by age. A total of 200 teeth were prepared for one-piece cast fixed implant-supported prostheses. Electroodontometry (EO) was performed and masticatory force (MF) was measured by the proposed method (patent number 99095142 dated September 16, 1999) before the preparation, when an anesthetic was worn off and one month after preparation.

**Results.** The positive results of our method were clinically confirmed by the EO data analysis and the MF values measured by proposed by us method on the day of the study, the next day, in a month after the intact teeth were coated with the proposed complex of preparations. When assessing the data obtained, it was found that there were no significant changes in the EO indices as well as MF indicators on the day of the examination, the next day, in a month after the examination in the study group compared with the control.

**Conclusions.** Analyzing the results obtained, it can be noted that our method has a significant advantage in protecting the stumps during teeth preparation at the stages of treatment with non-removable prosthesis design and contributes to preventing complications of the hard dental tissue preparation.

## Ключові слова:

рецепторний апарат, інтактні зуби, електроодонтометрія, жування, методика захисту, світлотвердний адгезив, антигомтоксичний препарат.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 790–794

## Клінічне випробування методу захисту рецепторного апарату зубів на етапах лікування незнімними конструкціями протезів

O. V. Voznyi, I. V. Yanishen, I. L. Diudina, V. H. Tomilin, A. V. Pohorila

**Мета роботи** – клінічне підтвердження експериментально отриманих результатів щодо захисту рецепторів жувального тиску зубів шляхом застосування антигомтоксичного препарату разом з вітчизняним світлотвердним адгезивом.

**Матеріали та методи.** Метод апробований на 72 пацієнтах, з них 57 утворили основну, а 15 – контрольну групу, яких поділили на 3 підгрупи за віковими ознаками. Препарували під опорні елементи незнімних суцільнолітих протезів 200 зубів. Вимірювали показники електроодонтометрії (ЕО) та жувального тиску (ЖТ), застосовуючи метод, який запропонували (патент № 99095142 від 16.09.1999), до операції препарування, після завершення дії анестезії та через місяць після препарування.

**Результати.** Позитивні результати розробленого методу в клініці підтверджуються аналізом даних електроодонтометрії та значення жувального тиску, що виміряли за методикою, яку запропонували, в день дослідження, наступного дня, через місяць і через рік після того, як інтактні зуби були покриті комплексом препаратів за допомогою методу, який запропонували. Оцінюючи результати, встановили: в основній групі порівняно з контрольною показники електроодонтометрії в день дослідження, через день, через місяць після дослідження не мали значущих змін, те саме стосується показників жувального тиску в названих періодах дослідження.

**Висновки.** Аналізуючи отримані результати, визначили, що метод має суттєву перевагу щодо захисту кукси під час підготовки інтактних зубів на етапах лікування незнімними конструкціями протезів і сприяє запобіганню ускладнень операції з підготовки твердих тканин.

## Клиническое испытание метода защиты рецепторного аппарата зубов на этапах лечения несъемными конструкциями протезов

A. V. Voznyi, I. V. Yanishen, I. L. Diudina, V. H. Tomilin, A. V. Pohorila

**Цель работы** – клиническое подтверждение экспериментально полученных результатов по защите рецепторов жевательного давления зубов путем применения антигомтоксического препарата с отечественным светоотверждаемым адгезивом.

**Материалы и методы.** Метод апробирован на 72 пациентах, из которых 57 составляли основную, а 15 – контрольную группу, которых разделили на 3 подгруппы по возрастным признакам. Препарировали под опорные элементы несъемных цельнолитых протезов 200 зубов. Измеряли показатели электроодонтометрии (ЭО) и жевательного давления (ЖТ) предложенным ранее методом (патент № 99095142 от 16.09.1999), до операции препарирования, после окончания действия анестезии и через месяц после препарирования.

**Результаты.** Положительные результаты разработанного метода в клинике подтверждаются анализом данных электроодонтометрии и значений жевательного давления, измеренных по предложенному методу, в день исследования, на следующий день, через месяц после того, как интактные зубы были покрыты комплексом препаратов предлагаемым методом. При оценке полученных данных установлено, что в основной группе по сравнению с контрольной по показателям электроодонтометрии в день исследования, через день, через месяц и год после исследования значимых изменений показателей не было, то же относится к данным жевательного давления в указанные периоды исследования.

**Выводы.** Анализируя полученные результаты, установлено, что предложенный метод обладает существенным преимуществом защиты культи при подготовке интактных зубов на этапах обработки несъемными конструкциями протезов и способствует профилактике осложнений операции по подготовке твердых тканей.

**Ключевые слова:** рецепторный аппарат, интактные зубы, электроодонтометрия, жевание, методика защиты, светоотверждаемый адгезив, антигомтоксический препарат.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 790–794

At present, the most commonly used prosthesis constructions are plastic- or ceramic-coated one-piece-cast, but the number of cases involving intact tooth pulp extraction, which is considerably supportive, regardless of an initial state of the tooth, has significantly increased in fixing these dentures. The reason for this is the desire of orthopedic dentists to avoid possible complications in the hard dental tissue preparation linked to the data about possible damage to the dentinal tubules and, as a result, the disturbance of hydrodynamic odontoblast processes. Depending on the removed layer of dentin, there is also a possibility to start compensatory mechanisms. However, it depends on the volume of tissues prepared, time interval since intervention [1,2,6,9,10,11,14].

Nevertheless, these protective reactions do not always start. Therefore, the first stage of prosthetic preparation is a dental pulp extraction. But some researches have proven that this manipulation significantly reduces the strength of dentin, which is the reason of frequent damage to the tooth crown after prosthetic treatment and a decrease in toughness and resistance to MF during functional loading [3,5,7,8,12].

To preserve intact teeth and prevent negative consequences, various methods of pulp extraction and techniques for preservation of supporting pulp vitality and reduction of their sensitivity after preparation were proposed by many scientists. According to these methods, the stumps of the prepared teeth were covered with various materials, provisional crowns, which were fixed with one-step and multi-step self-etching adhesives. However, none of the proposed methods resulted in restoration of the dental hard tissue and odontoblast processes damage during preparation, which are a part of the mechanoreceptors in the tooth pulp [4,13,15].

In view of the above and taking into account the relevance and practical importance of this issue, we proposed a method that was tested in the clinical practice of orthopedic dentistry.

## Purpose

The purpose of the study was to confirm clinically the experimentally obtained results to protect the receptor apparatus of the teeth by using the complex of antihomotoxic drug “Traumeel” and the domestic light-curing adhesive.

## Materials and methods

The method was tested in 72 patients, 57 of whom were the main group and 15 were controls. They were divided into 3 subgroups by age. In total, 200 teeth were prepared for one-piece cast fixed implant-supported prostheses. The dental stump was prepared according to our method consisting of the following steps: an infiltration anesthesia giving preference to intraligamentary injections using anesthetics of the articaine formulations such as Septanest, Ultracain with 1:100.000 or 1:200.000 epinephrine depending on the clinical case.

The dental hard tissues were ground with a centered and sharp water-cooled abrasive tool at 300.000 revolutions per second. After preparation, the stumps of the teeth were covered with etching gel for 20–30 seconds. This significantly contributes to medicines penetration into the dental tubules. Then the gel was washed away by a water stream, sterile cotton pellet was placed to isolate the stump of the tooth and absorb any oral fluids and, if necessary, a saliva aspirator was used additionally, the stumps were dried with warm air. The antihomotoxic drug “Traumeel” was applied evenly over the dental stump surface with an applicator and a current of warm air. The domestic light-curing adhesive was subsequently applied with the applicator over the antihomotoxic preparation. The current of warm air was used to remove the rest of the drug. Following that, the adhesive was polymerized for 20 seconds. To reduce the environmental effect on the dental stumps of the prepared tooth, temporary crowns that were point-of-care made before the dental preparation, were fixed with the water dentine via material of GNJ Tempo Lux Company according to the standard methods [10,11].

For clinical validation of the experimental study results, the parameters of EO and MF were measured according to the method proposed by us (patent No. 99095142 of 16.09.1999) before the preparation, when an anesthetic was worn off and one month after the preparation.

## Results

The data analysis was aimed at determining the dynamics of EO and MF indicators, naturally occurring after the dental hard tissues preparation, the effectiveness of our proposed methodology in the experimental and control groups of patients as well as identifying the factors contributing to positive and, possibly, negative changes. ANOVA was used to measure statistical differences between results

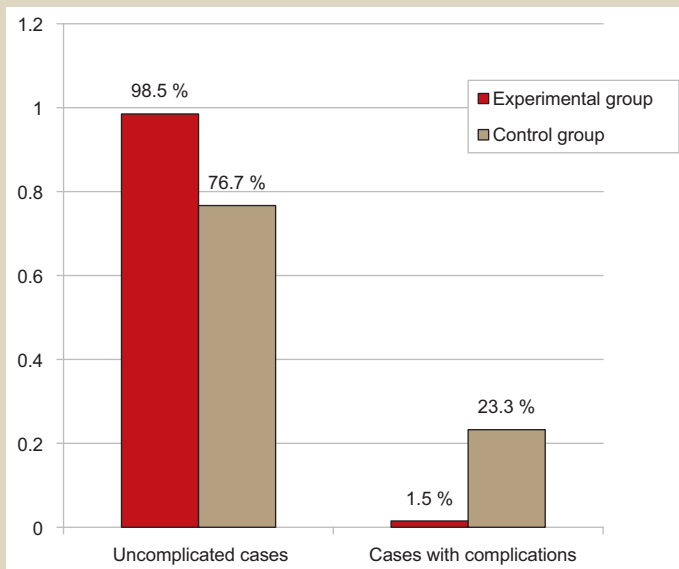


Fig. 1. Percentage of uncomplicated and complicated cases by electro-odontometry after teeth preparation in the studied and control groups.

of the analysis using SAS software package. Regression analysis was implemented using Statistica software package (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

As shown in Table 1, the EO parameters remained practically unchanged or slightly increased in the study group before the operation of preparation, on the next day and in a month after that when using our method, and did not depend on the group of teeth.

The EO values showed almost the same downward trend, except for incisors, after the preparation in both the study and control group.

However, the picture was significantly changed in a month. If the EO indicators remained the same as they were before the preparation for the studied group, a statistically significant increase in these indices was observed in the control group concerning practically all anatomically oriented teeth, except for canines.

Looking at the average EO values in the study group, it can be seen that indicators were not increased in 84.96 % of cases after the experimental processing of the teeth. In 13.54 % of cases, there was a slight increase in this indicator and only in 1.5 % of cases it was increased, that can be interpreted as a complication.

In the controls, unlike the study group, the EO index was not increased only in 20 % of cases, and it was significantly increased in 23.3 % of cases that can be interpreted as a complication, but a change in the indices was of 1–2 units from baseline in 56.7% of cases. It is notable that the control group indicators were more than 2 times higher than in the study group. This indicates a much less certainty regarding the control processing results.

There were only 2 cases with complications in the study group constituting 1.5 % of the total number of teeth processed by our method. At the same time, there were 14 complicated cases in the control group accounting for 23.3 % of the studied teeth number (Fig. 1).

The average values (M) of the MF and the standard errors of the mean (m), obtained from the clinical study, by patient groups and anatomically oriented groups of teeth are given in Table 2.

The analysis of MF measurements (Table 2) demonstrated independence of these indicators from the group of teeth and absence of their significant changes in the studied individuals.

The MF data from Table 2 shows that the increase in this index was statistically significant for not only the incisors

Table 1. Indicators of electro-odontometry, mA

Group	Index	Incisors			Canines			Premolars			Molars			
		Before	On the next day	In a month	Before	On the next day	In a month	Before	On the next day	In a month	Before	On the next day	In a month	
Study	M	3.24	2.21	3.34	4.10	2.85	3.95	4.36	3.06	4.42	5.20	3.74	5.65	
	m	0.09	0.09	0.15	0.23	0.21	0.25	0.15	0.12	0.14	0.16	0.18	0.24	
		P1 < 0.001		P2 > 0.05	P1 < 0.001	P2 > 0.05		P1 < 0.001		P2 > 0.05		P1 < 0.001		P2 > 0.05
Control	M	3.22	2.67	6.22	4.75	3.50	5.25	4.20	2.93	6.07	4.83	3.89	6.89	
	m	0.15	0.24	0.76	0.48	0.50	0.48	0.20	0.16	0.36	0.22	0.14	0.62	
		P1 < 0.05		P2 < 0.001	P1 < 0.001		P2 < 0.001		P1 < 0.001		P2 < 0.001		P1 < 0.05	

P1: significance between before the preparation and on the next day after that; P2: significance between before the preparation and in a month after that.

Table 2. Masticatory force indicators, pF

Group	Index	Incisors			Canines			Premolar			Molar			
		Before	On the next day	In a month	Before	On the next day	In a month	Before	On the next day	In a month	Before	On the next day	In a month	
Study	M	10.79	12.79	11.41	14.10	16.15	14.40	18.44	20.53	19.00	31.66	33.97	32.63	
	m	0.23	0.26	0.40	0.46	0.47	0.47	0.39	0.39	0.38	0.59	0.57	0.61	
		P < 0.001		P > 0.05	P < 0.001		P > 0.05		P < 0.001		P > 0.05		P < 0.01	
K	M	10.22	12.55	13.44	15.00	17.55	16.75	18.89	21.83	22.00	33.00	35.67	36.27	
	m	0.60	0.63	0.69	0.71	0.75	1.11	0.35	0.36	0.40	0.46	0.47	0.65	
		P < 0.01		P < 0.01		P < 0.05		P < 0.05		P < 0.001		P < 0.001		P < 0.001

P1: significance between before the preparation and on the next day after that; P2: significance between before the preparation and in a month after that.

and canines on the next day after processing if compared between the study and control groups, as this increase concerning the premolars and molars was significantly greater in the control group than in the experimental group.

The MF indicators of the experimental group were not increased in 55.64 % of cases in a month after processing. In 42.1 % of cases, this indicator was increased of 1–2 pF and only in 2.26 % of cases – of 4 pF and more that can be understood as complications.

In the control group, the MF indicator was not increased only in 3.33 % of cases and its significant increase (4 pF and more) was observed in 36.66 % of cases that could be considered as complications (Fig. 2).

## Discussion

From the analysis of the obtained results, it can be seen that the EO and MF indicators remained at the same level in a month after preparation in more than 50 % of the cases and did not depend on the tooth anatomical orientation in those patients who underwent the proposed by us protective method of stumps supporting during teeth preparation [12]. Nevertheless, in the control group, where our technique was not applied, the same indicators were significantly increased in a month and the anatomical dependence of the tooth was very important. The largest increase in these indicators was observed for incisors, then for canines, premolars and less for all the molars.

## Conclusions

Thereby, we can see a significant advantage of our method in protecting the intact stumps during teeth preparation at the stages of treatment with non-removable prosthesis design. This makes it possible to apply our protective method of stumps supporting in the wide orthopedic practice and significantly increase the use of orthopedic non-removable denture helping prevention of complications in the hard dental tissues preparation.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 14.05.2019  
Після доопрацювання / Revised: 16.08.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 10.09.2019

### Information about authors:

Voznyi O. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Therapeutic, Prosthetic and Pediatric Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.  
Yanishen I. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Orthopedic Dentistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.  
Diudina I. L., MD, PhD, Associate Professor, Department of Orthopedic Dentistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.  
Tomilin V. H., MD, PhD, Associate Professor, Department of Orthopedic Dentistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.  
Pohorila A. V., MD, Assistant, Department of Orthopedic Dentistry, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

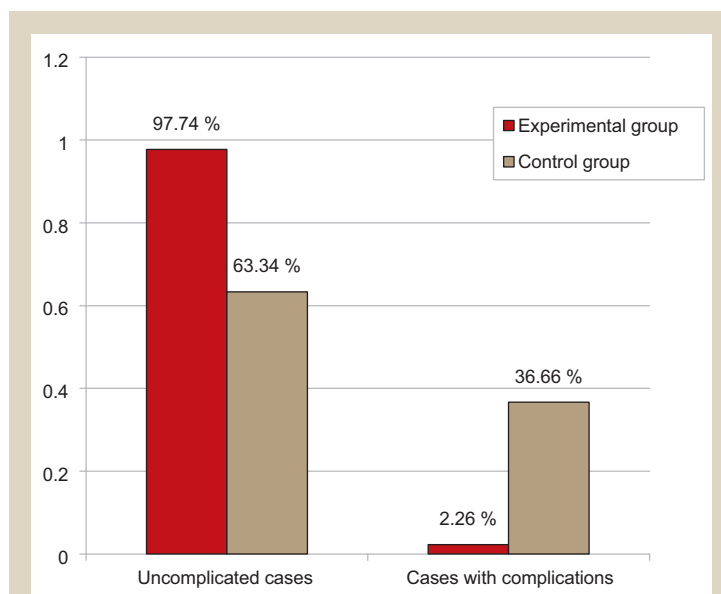


Fig. 2. Percentage of uncomplicated and complicated cases by MF indicator after teeth preparation in the studied and control groups.

### Відомості про авторів:

Возний О. В., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.  
Янішен І. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. ортопедичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.  
Дюдіна І. Л., канд. мед. наук, доцент каф. ортопедичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.  
Томілін В. Г., канд. мед. наук, доцент каф. ортопедичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.  
Погоріла А. В., асистент каф. ортопедичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.

### Сведения об авторах:

Возный А. В., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. терапевтической, ортопедической и детской стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.  
Янишен И. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. ортопедической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.  
Дюдина И. Л., канд. мед. наук, доцент каф. ортопедической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.  
Томилинов В. Г., канд. мед. наук, доцент каф. ортопедической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.  
Погорелая А. В., ассистент каф. ортопедической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

### References

- [1] Bolshakov, G. V., & Bedjurova, B. K. (2002). Izuchenie temperaturnoj chuvstvitelnosti zubov na jetajah ortopedicheskogo lechenija [Study of the temperature sensitivity of teeth during the orthopedic treatment]. *Institute of Dentistry*, 1, 30-31. [in Russian].
- [2] Bolshakov, G. V., & Kuznecov, O. S. (2009). Germetizacija vskrytyh dentinnyh kanalcev posle odontopreparirovanija [Sealing of opened dentinal tubules after odontodissection]. *Current issues in dentistry. Collection of Scientific Abstracts*. (S. 45-47). Moscow. [in Russian].

- [3] Makeeva, I. M., Panina, T. M., Amanatidi, G. E., & Pogabalo, I. V. (2002). Issledovanie reakcii sosudov pulpy na primenenie razlichnykh adgezivnykh sistem [Study of the reaction of pulp vessels to the use of various adhesive systems]. *Stomatology*, 6, 20-23. [in Russian].
- [4] Garazha, S. N., Grishilova, E. N., Kashnikov, P. A., Garazha, I. S., & Kodzhakova, T. Sh. (2013). Morfologicheskie izmeneniya v povrezhdennom dentine zubov pod vliyaniem sinteticheskogo gidroksiapatita [Morphology of damage due dentin of the teeth synthetic hydroxyapatite]. *Fundamental research*, 9(6), 999-1002. [in Russian].
- [5] Kalamkarov, H. A. (2003). *Ortopedicheskoe lechenie s primeneniem metallokeramicheskikh protezov [Orthopedic treatment with metal-ceramic prostheses]*. Moscow. [in Russian].
- [6] Petrikas, A. Zh., Petrikas, O. A., Kartoshkin, A. A., & Zhuravlev, O. N. (2018). Pulpotomija pri protezirovanii zubov. Pilotnoe issledovanie [Pulpotomiya at prosthetics of teeth. Pilot research]. *Actual problems in dentistry*, 14(2), 48-51. [in Russian].
- [7] Gente, M. (2001). Novyj metod ogranicheniya glubiny preparirovaniya [A new method for limiting the dissection depth]. *NewDent*, 2, 38-45. [in Russian].
- [8] Zabuha, Yu. I., & Bida, O. V. (2016). Rezultaty ortopedychnoho likuvannya patsientiv z defektamy tverdikh tkanyh vitalnykh zubiv [The results of orthopedic treatment of patients with defects of hard tissues of vital teeth]. *Ukrainian Dental Almanac*, 2, 40-42. [in Ukrainian].
- [9] Bida, V. I., Struk, V. I., Bida, O. V., & Sydorenko, T. H. (2015). Pokaznyky mikrotsyrkulatsii tkanyh parodonta u osib z patolohichnym styranniam tverdikh tkanyh zubiv riznoho stupenia tiazhkosti, uskladnenym bruksyzmom [Indicators of microcirculation in periodontal tissues in individuals with pathological abrasion of hard tissues of teeth of varying severity, complications of bruxism]. *Collected Works employees NMAPO them. PLS Shupyk*, 24(1), 471-477. [in Ukrainian].
- [10] Yanishen, I. V., & Diudina, I. L. (2016). Patohenetychni mekhanizmy rozvytku zmin u retseptornomu aparati zubiv pid chas preparuvannya tverdikh tkanyh na vplyv depulpuvaniya na yikh vytryvalist do mekhanichnykh navantazhen (ohliad literatury) [Pathogenetic mechanism of development of change in reception apparatus of teeth in during preparation hard tissues and impact the devitalization on fixedness to mechanical load (review of the literature)]. *Journal of Medical and Biological Problems*, 1(126), 62-66. [in Ukrainian].
- [11] Holik, V. P., & Diudina, I. L. (2013). Vplyv operatsii preparuvannya tverdikh tkanyh na pulpu zuba pid chas likuvannya neznimnymy konstruktivnyy proteziv [Influence the operation of preparation hard tissue on pulp of tooth in period] *Treatment by Fixed Dental Prosthesis*, 1(4), 11-15. [in Ukrainian].
- [12] Abdollahi, A., & Jalalian, E. (2019). Effectiveness of two desensitizer materials, potassium nitrate and fluoride varnish in relieving hypersensitivity after crown preparation. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 20(4), 489-493.
- [13] Nawareg, M. M., Zidan, A. Z., Zhou, J., Chiba, A., Tagami, J., & Pashley, D. H. (2015). Adhesive sealing of dentin surfaces in vitro: A review. *American journal of dentistry*, 28(6), 321-332.
- [14] Dereiko, L. V., Zhyznomyrskaya, O. O., Samoiliuk, L. H., Trukh, H. H., & Nefodova, T. O. (2005). Zastosuvannya antyhomotoksiychnoi terapii v kompleksnomu likuvanni heneralizovanoho parodontytu [The importance of antihomotoxic therapy for generalized parodontitis combined treatment]. *Medicine of Ukrainian transport*, 3, 63-65. [in Ukrainian].
- [15] Yanishen, I., Diudina, I., Krychka, N., Dieva, T., & Kuznetsov, R. (2019). Experimental justification of a method-of-choice to protect the receptor apparatus of the teeth, supporting a non-removable design denture. *Georgian Medical News*, 1(286), 36-39.





**Key words:**  
skin, immune  
system,  
neofibrolifting  
(rejuvenation).

Zaporozhye  
medical journal  
2019; 21 (6), 795–801

## Clinico-immunological efficiency of age-related skin changes correction by neofibrolifting

H. V. Tsepkolenko

**The aim** of the work is to develop a procedure for isolation of lymphocytes from biopsied skin samples, to study the content of CD4+ and CD8+ cells of  $\alpha\beta$ -lymphocytes subpopulations in patients of different age groups in the process of neofibrolifting and to evaluate the possible role of the skin immune system in achieving an effective clinical result by the indicated method of involutional changes correction.

**Materials and methods.** In total, 99 patients of different ages with signs of skin chrono- and photoageing on the face who visited the Clinic "Virtus" were examined and treated. Clinical and dermatological examinations were conducted, as well as neofibrolifting with the sequential intradermal administration of platelet-rich plasma (PRP) and dermal autofibroblasts (DFBs). PRP was prepared by standard centrifugation on a Harvest Smart PReP2 special centrifuge. DFBs were obtained from biopsied skin samples of the postaural area and accumulated *ex vivo* in the biotechnological laboratory. Lymphocytes from the skin biopsies were isolated by enzymatic treatment. Phenotyping of cells for CD4 and CD8 antigens was performed by flow cytometry.

**Results.** It was established that the clinical manifestation of involutional changes in the skin is accompanied by a decrease in the number of CD4+ and CD8+ lymphocytes. As a result of neofibrolifting, a significant clinical correction of age-related disorders is observed. At the same time, the number of CD4+ cells increases within 2 weeks of the PRP administration and increases further as a result of autofibroblasts transplantation and remains at a high level over the entire follow-up period (12 months). The number of CD8+ lymphocytes in the skin is changed in the opposite direction. The clinical improvement was clearly pronounced after autofibroblast transplantation and throughout the 12-month period.

**Conclusions.** The number of CD4+ and CD8+ cells in patients aged 45-55 and 56 years and older is significantly reduced compared with the indices of younger patients, which indicates aging of the skin T-cell immunity. As a result of neofibrolifting, there is a significant increase in the number of CD4+ lymphocytes after the PRP introduction followed by an increase in their level due to autotransplantation of fibroblasts, which remains significantly higher than baseline for 12 months. The number of CD8+ lymphocytes changes in the opposite direction. The results indicate that the skin immune system is partly involved in the implementation of neofibrolifting mechanisms.

У сучасній дерматології все більше привертає увагу думка, що розроблення нових підходів до підвищення ефективності, профілактики та корекції інволюційних змін у шкірі необхідно здійснювати, враховуючи роль імунної системи, яка теж піддається старінню. Елементи імунної системи представлені у шкірі широко й так по-особливому розташовані, що склався єдиний погляд про те, що шкіра належить до одного із найважливіших периферичних органів цілісної імунної системи. Без досконалого вивчення імунної складової шкіри неможливо скласти правильне уявлення ні про структуру, ні про її функціонування. Очевидною є також участь імунної системи в розвитку інволюційних змін, що нині вивчено менше, ніж інші аспекти. Не виникає сумніву, що можливості імунної системи шкіри у збереженні та оздоровленні її тканини можуть бути використані ефективніше. Отже, постає логічне питання про поглиблене вивчення імунної системи шкіри у процесі її старіння, а також обґрунтовується думка про використання імунних механізмів під час розроблення нових лікувально-профілактичних заходів.

Зміни імунної системи у процесі старіння в останні роки позначають терміном «імуносенесценція», однією з причин котрої є процес млявого хронічного запалення, для визначення якого введено термін «inflamm-aging» [1–7]. Про важливість і інформативність дослідження субпопуляцій CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитів у процесі старіння та корекції інволюційних змін у шкірі свідчить те, що імуносенесценція супроводжується вираженим зниженням кількості CD4+ клітин, особливо наївних [8], а також іноді підвищенням кількості CD8+ субпопуляції [9, 10], передусім, термінально диференційованих лімфоцитів [11, 12]. Можна припустити, що одними з найадекватніших антивейджингових підходів виявляються ті, що перешкоджатимуть саме імуносенесценції.

Серед них найбільш перспективними вважають методи аутоотрансплантації дермальних фібробластів, яким належить головна роль у формуванні міжклітинного матриксу та підтримці клітин імунної системи, стан яких може показувати здоров'я шкіри [13].

### Мета роботи

Розробити методику виділення з біоптату шкіри лімфоцитів, вивчити вміст CD4+ і CD8+ клітин субпопуляцій  $\alpha\beta$ -лімфоцитів у пацієнтів різних вікових груп у процесі здійснення неофіброліфтингу й оцінити можливу роль імунної системи шкіри в досягненні ефективного клінічного результату зазначеним способом корекції інволюційних змін.

### Матеріали і методи дослідження

Після підписання інформованої згоди в дослідженнях взяли участь 99 пацієток, які звернулися у клініку пластичної хірургії та косметології «Віртус» зі скаргами на вікові зміни шкіри в період 2015–2018 рр. Пацієток поділили на 4 вікові групи. У групі жінок віком 25–35 років були ранні вікові зміни, що характеризувалися передусім наявністю мімічних і поверхневих статичних зморшок – II А клас (n = 22). У групі 36–45 років переважали глибокі статичні зморшки з початковими проявами гравітаційного птозу – II В клас (n = 30). У пацієнтів віком 46–55 років були глибокі статичні зморшки та гравітаційний птоз 1–2 ступеня – III А клас (n = 18). У групі жінок віком 56 років і старше визначили глибокі мімічні й статичні зморшки та гравітаційний птоз 3 ступеня – III В, III С класи (n = 29). У групі порівняння обстежували практично здорових жінок віком 25–35 років, в яких не було ознак хроно- або фотостаріння (n = 20).

**Схема неофіброліфтингу.** Після виконання всіх клінічних аналізів проводили процедуру забору біоптату шкіри для отримання дермальних фібробластів і Т-лімфоцитів для фенотипування. Через 2 тижні здійснили процедуру ведення збагаченої тромбоцитами плазми (PRP) – інтрадермальні ін'єкції в об'ємі 14 мл препарату на одну процедуру. Ще через 2 тижні – процедуру взяття біоптату шкіри для здійснення імунологічних досліджень та одночасного введення аутофібробластів – інтрадермальні ін'єкції, 30 млн клітин. Ще через 2 тижні, 6 і 12 місяців після введення аутофібробластів виконали процедуру взяття біоптату шкіри для імунологічних досліджень.

PRP отримували відомим методом, використовуючи спеціальну автоматичну центрифугу Harvest Smart PRP2 (США). Культуру аутологічних фібробластів і лімфоцитів шкіри отримували й здійснювали їх фенотипування в біотехнологічній лабораторії SmartCell за власний кошт дослідника. Після механічної дезінтеграції взятого з завушної ділянки біоптату на шматочки розміром 0,5–1,0 мм<sup>3</sup>, отримані фрагменти шкіри в теплому поживному середовищі (37 °С) переносили в культуральний флакон. Флакон поміщали в CO<sub>2</sub>-інкубатор при температурі 37 °С та абсолютній вологості. Кожні 3–4 дні замінювали поживне середовище на свіже. Стан первинної культури в середньому тривав 12–18 діб. Потім виконували перший пасаж клітин. Для неофіброліфтингу використовували дермальні фібробласти 2–3 пасажу.

Біоптати шкіри для виділення лімфоцитів обробляли розчином диспази (1 мг/мл) в середовищі RPMI 1640 (Invitrogen) протягом 60 хвилин за температури 37 °С. Потім виконували інкубацію зразків у розчині колагенази з концентрацією 0,8 мг/мл (тип IV) в середовищі RPMI 1640, що містила 10 % FCS і 500 U/ml GM-CSF, протягом 8 год у чашці Петрі, а також збирали клітини, що мігрують. Визначена за методом виключення трипанового синього життєздатність виділених у такий спосіб клітин зазвичай становила 80–90 %. Зразки клітинної суспензії з концентрацією не більше ніж 10 тис. клітин у 1 мл інкубували у блокувальному розчині, що містив 5 % мишачої сироватки, 5 % щурячої сироватки з додаванням 1 % FcBlock Solution (eBiosciences, San Diego, CA) в PBS, а потім забарвлювали за застосуванням стандартної панелі

BD Multi-Check Control протягом 30 хв при кімнатній температурі. Після забарвлення клітини промивали й фіксували розчином на основі 0,4 % параформальдегіду у PBS. Клітини досліджували за допомогою проточного цитофлуориметра BD FACSCalibur з оригінальним програмним забезпеченням (BD Bioscience). Компенсацію виконували на початку кожного експерименту. Дані аналізували за допомогою програмного забезпечення CellQuest (BD Bioscience).

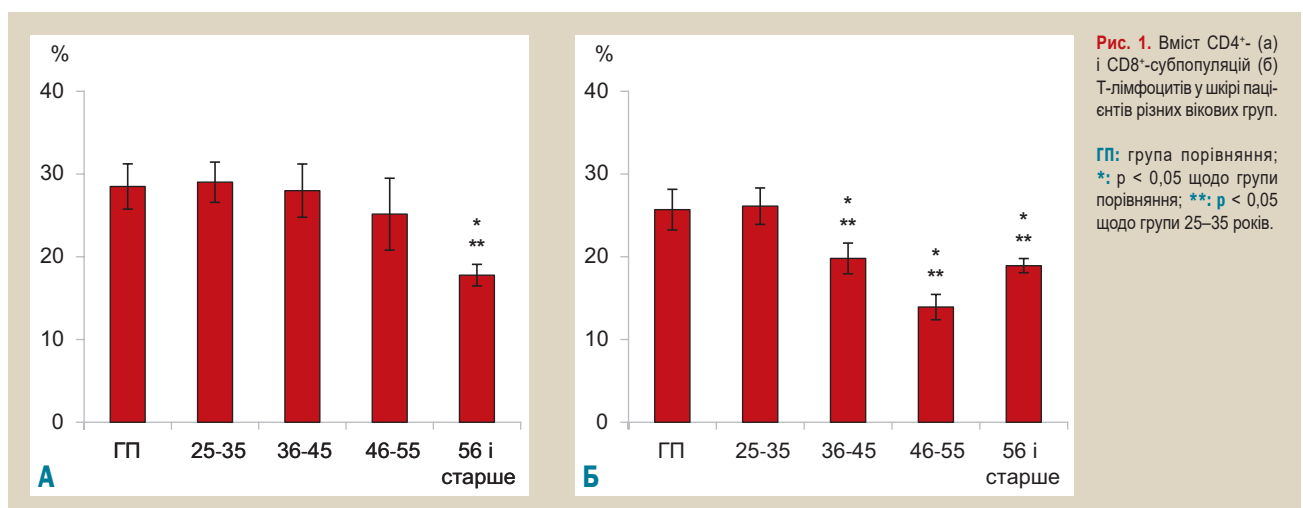
Результати опрацювали методами варіаційної статистики, використовуючи програму Excel (MS Office XP). Як описові статистики для кількісних ознак використовували середнє значення (M) і помилку середнього ( $\pm m$ ). Вірогідність відмінностей між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Під час інтерпретації результатів критичною величиною рівня значущості вважали 0,05.

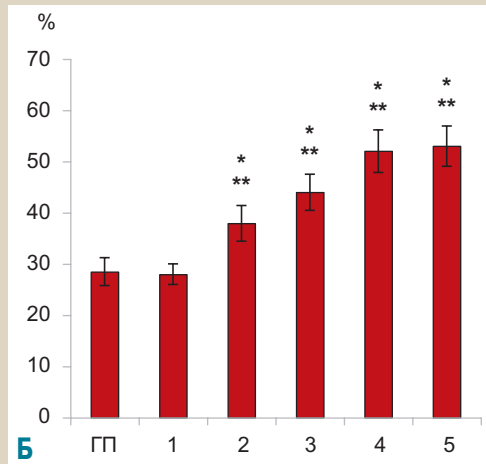
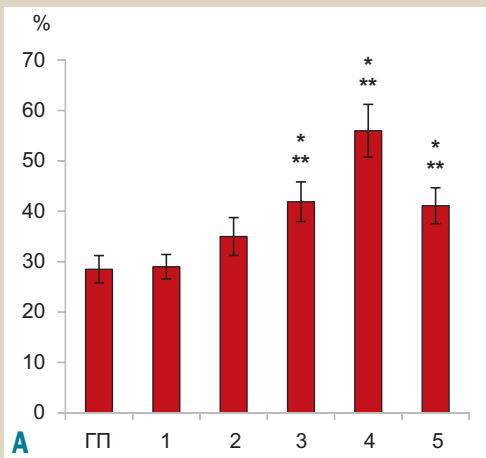
## Результати

Встановлено, що з віком кількість CD4<sup>+</sup> (рис. 1а) і CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів (рис. 1б) у шкірі суттєво зменшувалася, що може бути ознакою старіння імунної системи, оскільки відомо, що кількісні зменшення в субпопуляціях Т-клітин імунної системи притаманні процесу імуносенесценції [5].

У процесі неофіброліфтингу кількість CD4<sup>+</sup>-клітин значуще підвищувалася вже після введення PRP і потім після введення аутофібробластів зростала ще, з максимумом на 6 місяців (групи 25–35 і 46–55 років) (рис. 2 а, б) або 12 місяців (групи 36–45 років і 56 і старше) (рис. 2 б, в). Кількість CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів суттєво зменшувалася після введення PRP і потім знижувалася далі після аутотрансплантації фібробластів (рис. 3а–в). Значно нижчий, ніж до лікування, рівень CD8<sup>+</sup>-клітин зберігався протягом 12 місяців, хоча у групах 25–35 і 46–55 років можна побачити певне відновлення кількості CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів із 6 до 12 місяців.

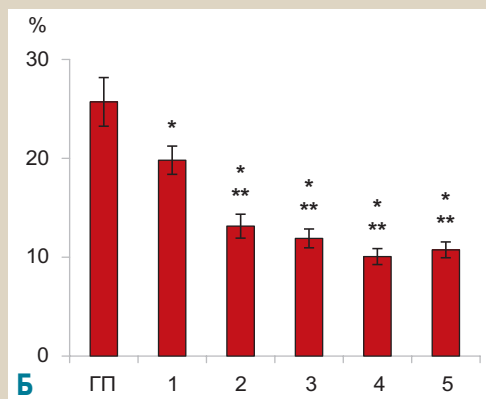
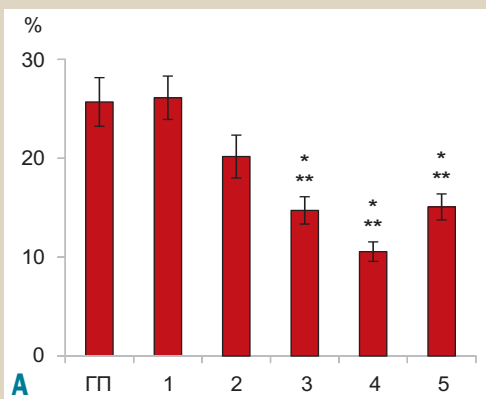
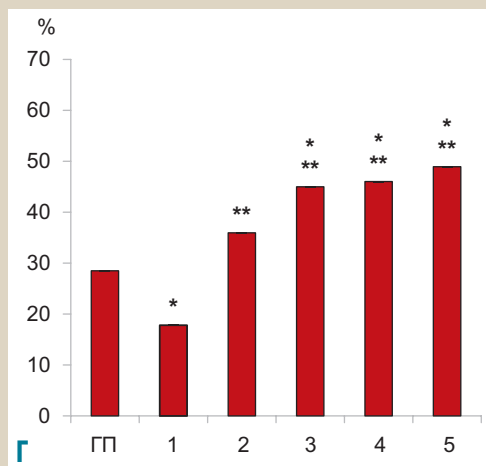
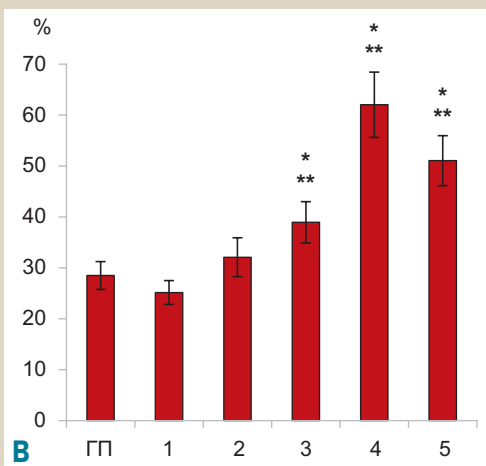
У результаті дослідження змін кількісної динаміки CD4<sup>+</sup>- і CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів у процесі неофіброліфтингу встановлено, що клінічний ефект корелює з різноспрямованими змінами кількості у шкірі названих субпопуляцій Т-лімфоцитів. Це свідчить про їхню ймовірну участь у реалізації ефекту методу та внаслідок введення PRP, і в





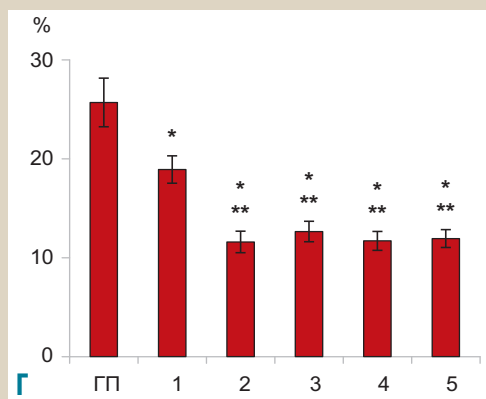
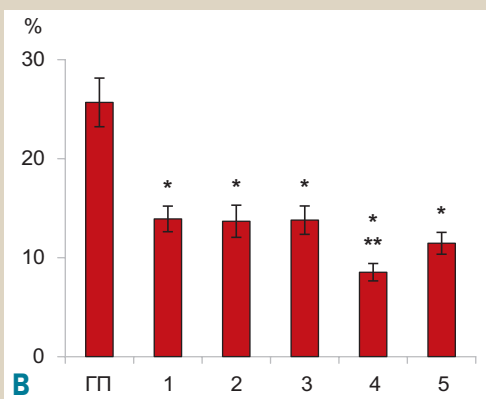
**Рис. 2.** Вміст CD4<sup>+</sup>-Т-лімфоцитів у шкірі пацієнтів різних вікових груп: **а:** 25–35 років, **б:** 36–45 років, **в:** 46–55 років, **г:** 56 років і старше.

**ГП:** група порівняння, **1–5:** динаміка лікування: 1 – до лікування, 2 – після введення PRP, 3 – після введення аутофіброblastів, 4 – через 6 місяців після лікування, 5 – через 12 місяців після лікування; **\***:  $p < 0,05$  щодо групи порівняння; **\*\***:  $p < 0,05$  порівняно з показниками до лікування.



**Рис. 3.** Вміст CD8<sup>+</sup>-Т-лімфоцитів у шкірі пацієнтів різних вікових груп: **а:** 25–35 років, **б:** 36–45 років, **в:** 46–55 років, **г:** 56 років і старше.

**ГП:** група порівняння; **1–5:** динаміка лікування: 1 – до лікування, 2 – після введення PRP, 3 – після введення аутофіброblastів, 4 – через 6 місяців після лікування, 5 – через 12 місяців після лікування; **\***:  $p < 0,05$  щодо групи порівняння; **\*\***:  $p < 0,05$  порівняно з показниками до лікування.



результаті аутоотрансплантації фібробластів. Важливою для оцінювання перспективності процедури є встановлена тривалість імунних змін.

Особливо треба відзначити регуляторну антиейджингову дію неофіброліфтингу, котра є привілеєю щодо CD4<sup>+</sup>-клітин і спрямована у протилежний бік щодо притаманної старінню. Можна припустити, що CD4<sup>+</sup>-лімфоцити важливіші для проявів регенерації шкіри, ніж CD8<sup>+</sup>-клітини. Але можна також припустити, що суттєве зниження кількості CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів у процесі неофіброліфтингу може мати і позитивний вплив. На користь цього свідчить задовільний і тривалий клінічний ефект, який проявлявся зменшенням кількості зморшок усіх типів, їхньої глибини та довжини, підвищення тургору й еластичності шкіри.

## Обговорення

Механізм впливу неофіброліфтингу на клітини імунної системи шкіри, безумовно, багатогранний. Передусім треба взяти до уваги, що після його здійснення відбувається збільшення кількості CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів і зменшення такої CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів. Важливо також, що реакція є тривалою – мінімум 12 місяців; це означає виникнення доволі стабільної тканинної перебудови.

На першому етапі після введення такого високоактивного біологічного матеріалу, яким є численні фактори, що вивільнюються з гранул тромбоцитів (PRP), індукується запалення, з якого зазвичай починаються всі ефективні імунні процеси, що на наступних етапах відзначаються залученням у процес регенерації необхідних клітин. Під дією PRP прозапальні цитокіни починають активно продукувати резидентні й трансплантовані стромальні клітини, а також самі лімфоцити, передусім субпопуляції Th1 і Th17. Вважається, що у шкірі адекватні умови для підтримки лімфоцитів створюють фібробласти. Так, унаслідок контакту з фібробластами CD56<sup>bright</sup>-клітини диференціюються у CD56<sup>dim</sup>-клітини [14]. Фібробласти прилипають до фібронектину. До нього та колагену III типу адгезують і зрілі гемопоетичні клітини, які взаємодіють також із колагеном I типу, тромбоспондином, металопротеїназами, гіалуронатом і багатьма іншими молекулами позаклітинного матриксу. Міжклітинні контакти й адгезія до міжклітинного матриксу впливають на одну з головних характеристик імунної системи – постійний рух лімфоцитів у тканинах і лімфоїдних утвореннях [15].

Взаємодія з фібробластами та матриксом може по-різному впливати на певні субпопуляції лімфоцитів. Показано, що дермальні МСК пригнічують проліферацію і шкірний хоумінг CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів, локалізованих в епідермісі [16] та підвищують активність Treg-клітин [17]. МСК індукують також абортинну програму активації диференційованих цитотоксичних лімфоцитів, що проявляється передусім пригніченням експресії на клітинах CD3<sup>+</sup>- і CD8<sup>+</sup>-молекул [18]. Фібробласти не індукують генерацію CD4<sup>+</sup>-тимоцитів, хоча при активації імунних реакцій індуція CD8<sup>+</sup>-цитотоксичних/супресорних клітин здійснюється одночасно з включенням CD4<sup>+</sup>-клітин-хелперів, хоча CD8<sup>+</sup>-клітини розвиваються повільніше, до того ж тільки під дією доволі сильних стимуляторів. Отже, розвиток і функціонування CD4<sup>+</sup>-

CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів суттєво розведені за часом, і розвивається вони можуть у протилежних напрямках.

Описані процеси можуть пояснити зміни у шкірі субпопуляції Т-лімфоцитів на перших етапах процесу неофіброліфтингу, коли головним фактором змін можна вважати індуковане PRP запалення. Але підсилене накопичення CD4<sup>+</sup>-клітин протягом тривалого часу (12 місяців) потребує продовження аналізу.

Відомо, що стромальні клітини піддаються старінню та сенесценції *in vitro* [19]. Високу стимульовальну функціональну активність фібробластів – дію, якої зазнають і резидентні, і трансплантовані клітини, – проявляють тромбоцитарні чинники [20], що слухно використовуються на початку неофіброліфтингу.

Відомо, що фактори першого етапу неофіброліфтингу можуть діяти подвійно. По-перше, індуковане запалення спричиняє підсилення активності резидентних і трансплантованих фібробластів і зумовлює розмноження функціонально повноцінніших клітин. По-друге, в умовах запалення та дії сильних стимулів реалізується апоптоз і заміна сенесцентних фібробластів на активовані, а отже створюються умови для периферичної лімфоцитарної експансії з елементами селекції.

Стимульовані фібробласти отримують нові можливості для взаємодії з імунною системою. Вони індукують генерацію дендритних клітин і разом із ними або самі по собі підвищують темп диференціювання та проліферації Т-клітин певних субпопуляцій. Передусім треба відзначити виражену здатність МСК до індукції Т-регуляторних клітин, які належать переважно до CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів [21].

Отже, репарація інволюційних змін у шкірі під час неофіброліфтингу включає кілька основних факторів. По-перше, це індуція запалення PRP і клітинна перебудова за участю лімфоїдних клітин і фібробластів; по-друге, видалення сенесцентних клітин та їхня заміна стимульованими резидентними фібробластами, а також кількісне поповнення тканини трансплантованими клітинами; по-третє, відоме поповнення шкіри мобілізованими з кісткового мозку ГСК, МСК і ендотеліальними попередниками, що роблять свій внесок у поліпшення мікрооточення, позитивно впливають на лімфопоез і сприяють антиейджинговій регенерації шкіри.

## Висновки

1. Біоптати шкіри завушної ділянки містять доволі велику кількість CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів і менше CD8<sup>+</sup>-клітин, які можуть бути отримані шляхом ферментативної обробки тканини й короткострокового культивування на пластику за наявності фетальної телячої сироватки і ГМ-КСФ.

2. Кількість CD4<sup>+</sup>- і CD8<sup>+</sup>-клітин у пацієнтів більш вікових груп (45–55 і 56 років і старше) виявляється суттєво зниженою порівняно з показниками молодших пацієнтів, що свідчить про старіння Т-клітинного імунітету шкіри.

3. У результаті неофіброліфтингу вже після введення PRP відбувається суттєве підвищення кількості CD4<sup>+</sup>-лімфоцитів зі зростанням надалі їхнього рівня в результаті аутоотрансплантації фібробластів, який залишається суттєво вищим від вихідного протягом 12 місяців. Кількість CD8<sup>+</sup>-лімфоцитів змінюється у протилежному напрямі, але також починається з реакції на PRP і далі

знижується у відповідь на аутотрансплантацію фібробластів до 12-місячного терміну спостереження.

4. Результати свідчать, що імунна система шкіри піддається старінню, а також що CD4<sup>+</sup> і CD8<sup>+</sup>-лімфоцити беруть певну участь у реалізації механізмів неофіброліфтингу, коли вивчені показники можуть змінюватися різноспрямовано, показуючи, мабуть, специфічний вплив на перебудову тканини, що індукуються PRP та аутофібробластами.

**Перспективи подальших досліджень** полягають в уточненні ролі вивчених факторів у розвитку інволюційних змін шкіри, підвищенні ефективності неофіброліфтингу та розробці нових удосконалених його методик.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** author has no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 03.04.2019

Після доопрацювання / Revised: 29.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 03.05.2019

#### Відомості про автора:

Цепколенко Г. В., лікар-дерматолог вищої категорії, зав. відділення лазерних, клітинних та фототехнологій, Інститут пластичної хірургії «Віртус», м. Одеса, Україна.

#### Сведения об авторе:

Цепколенко А. В., врач-дерматолог высшей категории, зав. отделения лазерных, клеточных и фототехнологий, Институт пластической хирургии «Виртус», г. Одесса, Украина.

#### Information about author:

Tsepkoenko H. V., MD, Dermatologist of the highest category, Head of the Department of Laser, Cell and Photo Technologies, Institute of Plastic Surgery "Virtus", Odesa, Ukraine.

#### Список літератури

- [1] RETRACTED: Chronic Inflammation: Accelerator of Biological Aging / B. Fougère et al. *The Journals Of Gerontology: Series A*, 2016. Vol. 72. Issue 9. P. 1218-1225. doi: 10.1093/geron/glw240
- [2] Inflamm-Aging of Hematopoiesis, Hematopoietic Stem Cells, and the Bone Marrow Microenvironment / L. Kovtonyuk et al. *Frontiers In Immunology*, 2016. Vol. 7. P. e502. doi: 10.3389/fimmu.2016.00502
- [3] Velarde M. Epidermal Barrier Protects against Age-Associated Systemic Inflammation. *Journal Of Investigative Dermatology*, 2017. Vol. 137. Issue 6. P. 1206-1208. doi: 10.1016/j.jid.2017.02.964
- [4] Boe D., Boule L., Kovacs E. Innate immune responses in the ageing lung. *Clinical & Experimental Immunology*, 2017. Vol. 187. Issue 1. P. 16-25. doi: 10.1111/cei.12881
- [5] Elias H., Bryder D., Park C. Molecular mechanisms underlying lineage bias in aging hematopoiesis. *Seminars In Hematology*, 2017. Vol. 54. Issue 1. P. 4-11. doi: 10.1053/j.seminhematol.2016.11.002
- [6] Immune System Dysfunction in the Elderly / E. Fuentes, M. Fuentes, M. Alarcón, I. Palomo. *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*, 2017. Vol. 89. Issue 1. P. 285-299. doi: 10.1590/0001-3765201720160487
- [7] Latchney S., Calvi L. The aging hematopoietic stem cell niche: Phenotypic and functional changes and mechanisms that contribute to hematopoietic aging. *Seminars In Hematology*, 2017. Vol. 54. Issue 1. P. 25-32. doi: 10.1053/j.seminhematol.2016.10.001
- [8] Tu W., Rao S. Mechanisms Underlying T Cell Immunosenescence: Aging and Cytomegalovirus Infection. *Frontiers In Microbiology*, 2016. Vol. 7. P. e2111. doi: 10.3389/fmicb.2016.02111
- [9] Changes in the Level of Immunoglobulins and CD4/CD8 Ratio in Young and Aged Mice with Estradiol Deficiency / M. Shao et al. *Immunological Investigations*, 2017. Vol. 46. Issue 3. P. 305-313. doi: 10.1080/08820139.2016.1267203
- [10] The influences of age on T lymphocyte subsets in C57BL/6 mice / J. Xie et al. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 2017. Vol. 24. Issue 1. P. 108-113. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.09.002

- [11] Pereira B., Akbar A. Convergence of Innate and Adaptive Immunity during Human Aging. *Frontiers In Immunology*, 2016. Vol. 7. P. 445. doi: 10.3389/fimmu.2016.00445
- [12] Saavedra D., Garcia B., Lage A. T Cell Subpopulations in Healthy Elderly and Lung Cancer Patients: Insights from Cuban Studies. *Frontiers In Immunology*, 2017. Vol. 8. P. 146. doi: 10.3389/fimmu.2017.00146
- [13] Цепколенко В. А., Цепколенко А. В. Неофіброліфтинг – новий алгоритм применения аутофібробластів. *KOSMETIK international*, 2015. № 2. С. 67-71.
- [14] CD56bright Human NK Cells Differentiate into CD56dim Cells: Role of Contact with Peripheral Fibroblasts / A. Chan et al. *The Journal Of Immunology*, 2007. Vol. 179. Issue 1. P. 89-94. doi: 10.4049/jimmunol.179.1.89
- [15] Mueller S., Germain R. Stromal cell contributions to the homeostasis and functionality of the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2009. Vol. 9. Issue 9. P. 618-629. doi: 10.1038/nri2588
- [16] Dermal Mesenchymal Stem Cells (DMSCs) Inhibit Skin-Homing CD8+ T Cell Activity, a Determining Factor of Vitiligo Patients' Autologous Melanocytes Transplantation Efficiency / M. Zhou et al. *PLOS ONE*, 2013. Vol. 8. Issue 4. P. e60254. doi: 10.1371/journal.pone.0060254
- [17] The immunosuppressive properties of non-cultured dermal-derived mesenchymal stromal cells and the control of graft-versus-host disease / L. Gao et al. *Biomaterials*, 2014. Vol. 35. Issue 11. P. 3582-3588. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.008
- [18] Mesenchymal stem cells fail to trigger effector functions of cytotoxic T lymphocytes / I. Rasmussen, M. Uhlin, K. Le Blanc, V. Levtitsky. *Journal Of Leukocyte Biology*, 2007. Vol. 82. Issue 4. P. 887-893. doi: 10.1189/jlb.0307140
- [19] Diffuse colonies of human skin fibroblasts in relation to cellular senescence and proliferation / V. Zorin et al. *Aging*, 2017. Vol. 9. Issue 5. P. 1404-1413. doi: 10.18632/aging.101240
- [20] Anita E., Pino A., Orive G. Plasma rich in growth factors promotes dermal fibroblast proliferation, migration and biosynthetic activity. *Journal Of Wound Care*, 2016. Vol. 25. Issue 11. P. 680-687. doi: 10.12968/jowc.2016.25.11.680
- [21] Burr S., Dazzi F., Garden O. Mesenchymal stromal cells and regulatory T cells: the Yin and Yang of peripheral tolerance? *Immunology And Cell Biology*, 2012. Vol. 91. Issue 1. P. 12-18. doi: 10.1038/icb.2012.60

#### References

- [1] Fougère, B., Boulanger, E., Nourhashémi, F., Guyonnet, S., & Cesari, M. (2016). RETRACTED: Chronic Inflammation: Accelerator of Biological Aging. *The Journals Of Gerontology: Series A*, 72(9), 1218-1225. doi: 10.1093/geron/glw240
- [2] Kovtonyuk, L., Fritsch, K., Feng, X., Manz, M., & Takizawa, H. (2016). Inflamm-Aging of Hematopoiesis, Hematopoietic Stem Cells, and the Bone Marrow Microenvironment. *Frontiers In Immunology*, 7, e502. doi: 10.3389/fimmu.2016.00502
- [3] Velarde, M. (2017). Epidermal Barrier Protects against Age-Associated Systemic Inflammation. *Journal Of Investigative Dermatology*, 137(6), 1206-1208. doi: 10.1016/j.jid.2017.02.964
- [4] Boe, D., Boule, L., & Kovacs, E. (2017). Innate immune responses in the ageing lung. *Clinical & Experimental Immunology*, 187(1), 16-25. doi: 10.1111/cei.12881
- [5] Elias, H., Bryder, D., & Park, C. (2017). Molecular mechanisms underlying lineage bias in aging hematopoiesis. *Seminars In Hematology*, 54(1), 4-11. doi: 10.1053/j.seminhematol.2016.11.002
- [6] Fuentes, E., Fuentes, M., Alarcón, M., & Palomo, I. (2017). Immune System Dysfunction in the Elderly. *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*, 89(1), 285-299. doi: 10.1590/0001-3765201720160487
- [7] Latchney, S., & Calvi, L. (2017). The aging hematopoietic stem cell niche: Phenotypic and functional changes and mechanisms that contribute to hematopoietic aging. *Seminars In Hematology*, 54(1), 25-32. doi: 10.1053/j.seminhematol.2016.10.001
- [8] Tu, W., & Rao, S. (2016). Mechanisms Underlying T Cell Immunosenescence: Aging and Cytomegalovirus Infection. *Frontiers In Microbiology*, 7, e2111. doi: 10.3389/fmicb.2016.02111
- [9] Shao, M., Zhu, Y., Qiu, Y., Hu, M., & He, Y. (2017). Changes in the Level of Immunoglobulins and CD4/CD8 Ratio in Young and Aged Mice with Estradiol Deficiency. *Immunological Investigations*, 46(3), 305-313. doi: 10.1080/08820139.2016.1267203
- [10] Xie, J., Zhang, J., Wu, H., Tang, X., Liu, J., & Cheng, G. et al. (2017). The influences of age on T lymphocyte subsets in C57BL/6 mice. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 24(1), 108-113. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.09.002
- [11] Pereira, B., & Akbar, A. (2016). Convergence of Innate and Adaptive Immunity during Human Aging. *Frontiers In Immunology*, 7, 445. doi: 10.3389/fimmu.2016.00445
- [12] Saavedra, D., Garcia, B., & Lage, A. (2017). T Cell Subpopulations in Healthy Elderly and Lung Cancer Patients: Insights from Cuban Studies. *Frontiers In Immunology*, 8, 146. doi: 10.3389/fimmu.2017.00146

- [13] Cepkolenko, V., Cepkolenko, A. (2015). Neofibrolifting – novyj algoritm primenenija autofibroblastov [Neofibrolifting – as a new algorithm for the useage of autofibroblasts]. *KOSMETIK international*, 2, 67-71. [in Russian].
- [14] Chan, A., Hong, D., Atzberger, A., Kollnberger, S., Filer, A., & Buckley, C. et al. (2007). CD56bright Human NK Cells Differentiate into CD56dim Cells: Role of Contact with Peripheral Fibroblasts. *The Journal Of Immunology*, 179(1), 89-94. doi: 10.4049/jimmunol.179.1.89
- [15] Mueller, S., & Germain, R. (2009). Stromal cell contributions to the homeostasis and functionality of the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 9(9), 618-629. doi: 10.1038/nri2588
- [16] Zhou, M., Zhang, Z., Wu, J., Lin, F., Fu, L., & Wang, S. et al. (2013). Dermal Mesenchymal Stem Cells (DMSCs) Inhibit Skin-Homing CD8+ T Cell Activity, a Determining Factor of Vitiligo Patients' Autologous Melanocytes Transplantation Efficiency. *PLOS ONE*, 8(4), e60254. doi: 10.1371/journal.pone.0060254
- [17] Gao, L., Liu, F., Tan, L., Liu, T., Chen, Z., & Shi, C. (2014). The immunosuppressive properties of non-cultured dermal-derived mesenchymal stromal cells and the control of graft-versus-host disease. *Biomaterials*, 35(11), 3582-3588. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.008
- [18] Rasmusson, I., Uhlin, M., Le Blanc, K., & Levitsky, V. (2007). Mesenchymal stem cells fail to trigger effector functions of cytotoxic T lymphocytes. *Journal Of Leukocyte Biology*, 82(4), 887-893. doi: 10.1189/jlb.0307140
- [19] Zorin, V., Zorina, A., Smetanina, N., Kopnin, P., Ozerov, I., & Leonov, S. et al. (2017). Diffuse colonies of human skin fibroblasts in relation to cellular senescence and proliferation. *Aging*, 9(5), 1404-1413. doi: 10.18632/aging.101240
- [20] Anitua, E., Pino, A., & Orive, G. (2016). Plasma rich in growth factors promotes dermal fibroblast proliferation, migration and biosynthetic activity. *Journal Of Wound Care*, 25(11), 680-687. doi: 10.12968/jowc.2016.25.11.680
- [21] Burr, S., Dazzi, F., & Garden, O. (2012). Mesenchymal stromal cells and regulatory T cells: the Yin and Yang of peripheral tolerance? *Immunology And Cell Biology*, 91(1), 12-18. doi: 10.1038/icb.2012.60

## Legal support for the use of natural therapeutic resources in sanatorium and resort treatment of the population

V. V. Kostytsky\*<sup>1,A-F</sup>, V. D. Sydor<sup>2,A-F</sup>, I. O. Kostytska<sup>3,A-F</sup>

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, <sup>2</sup>Kyiv Institute of Intellectual Property and Law, National University "Odesa Law Academy", <sup>3</sup>Institute of Legislation of the Verkhovna Rada of Ukraine, Kyiv

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

### Key words:

natural therapeutic resources, health resort, mineral water, medical mud, climate, treatment, medical rehabilitation, prevention.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (6), 802–807

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186603

\*E-mail: v.kostytsky@yahoo.com

**The aim.** To conduct a comprehensive study of the legal regulation peculiarities of natural therapeutic resources and factors of sanatorium and resort treatment for the population, to identify problems of legal regulation of these relations and to outline the ways to resolve them.

**Materials and methods.** The research material is a modern regulatory framework. The methods of information retrieval, analysis, systematization and generalization were carried out.

**Results.** It has been established that natural therapeutic resources include mineral and thermal water, medical mud and ozokerite, sea and lake brine, sea water, natural objects and complexes with favorable climatic conditions. It has been substantiated that sanatorium and spa treatment is an important part that provides continuity and complexity of medical rehabilitation measures. The main resorts, located on the territory of Ukraine, have been described. It has been determined that regulation of social relations in the sphere of organization and development of resorts and sanatorium-resort treatment, detection and accounting of natural medical resources, ensuring their rational extraction, use and protection in order to create favorable conditions for treatment, medical rehabilitation, prevention of diseases and vacation for people is provided by environmental, land, health care and resort legislation.

**Conclusions.** Legal regulation of the natural therapeutic resources usage is ensured by environmental, land, health care and resort legislation. The purpose of this legislation is to regulate social relations in the sphere of organization and development of resorts and sanatorium and spa treatment, to detect and account natural medical resources, to ensure their rational extraction, use and protection in order to create favorable conditions for treatment, medical rehabilitation, prevention of diseases and population health improvement.

Efficient exploitation of natural therapeutic resources in resort treatment is currently affected by a number of economic, political, environmental problems, which have to be solved by organizational and legal means of the state impact on such legal relations.

### Ключові слова:

природні ресурси, санаторій, мінеральні води, лікувальні грязі, клімат, лікування, медична реабілітація, профілактика.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 802–807

## Правове забезпечення використання природних лікувальних ресурсів у санаторно-курортному лікуванні населення

В. В. Костицький, В. Д. Сидор, І. О. Костицька

**Мета роботи** – здійснити всебічне вивчення особливостей правового регулювання природних лікувальних ресурсів, факторів санаторно-курортного лікування населення, виявити проблеми правового регулювання означених правовідносин та окреслити шляхи їхнього вирішення.

**Матеріали та методи.** Матеріал дослідження – сучасна нормативно-правова база. Використані методи інформаційного пошуку, аналізу, систематизації та узагальнення.

**Результати.** Встановили, що до природних лікувальних ресурсів належать мінеральні й термальні води, лікувальні грязі та озокерит, ропа лиманів та озер, морська вода, природні об'єкти, комплекси зі сприятливими для лікування кліматичними умовами. Обґрунтували, що санаторно-курортне лікування – важлива частина, що забезпечує безперервність, наступність і комплексність лікувальних реабілітаційних заходів.

Схарактеризовано основні курорти, котрі розміщені на території України. Визначено, що регулювання суспільних відносин у сфері організації, розвитку курортів і санаторно-курортного лікування, виявлення та обліку природних лікувальних ресурсів, забезпечення їх раціонального видобутку, використання та охорони з метою створення сприятливих умов для лікування, медичної реабілітації, профілактики захворювань та відпочинку людей забезпечується екологічним, земельним законодавством, законодавством про охорону здоров'я та про курорти.

**Висновки.** Правове регулювання використання природних лікувальних ресурсів забезпечується екологічним, земельним законодавством, охороною здоров'я та курортів. Метою цього законодавства є регулювання суспільних відносин у сфері організації та розвитку курортів і санаторно-курортного лікування, виявлення, облік природних медичних ресурсів, забезпечення їхнього раціонального видобутку, використання та охорони з метою створення сприятливих умов для лікування, медичної реабілітації, профілактики захворювань та оздоровлення людей.

Ефективне використання природних лікувальних ресурсів у санаторно-курортному лікуванні населення нині має низку серйозних проблем економічного, політичного, екологічного характеру, що мають бути вирішені за допомогою організаційно-правових заходів державного впливу на зазначені правовідносини.



## Правовое обеспечение использования природных лечебных ресурсов в санаторно-курортном лечении населения

В. В. Костицкий, В. Д. Сидор, И. А. Костицкая

**Цель работы** – провести всестороннее изучение особенностей правового регулирования природных лечебных ресурсов и факторов санаторно-курортного лечения населения, выявить проблемы правового регулирования этих правоотношений и очертить пути их решения.

**Материалы и методы.** Материал исследования – современная нормативно-правовая база. Используются методы информационного поиска, анализа, систематизации и обобщения.

**Результаты.** Установлено, что к природным лечебным ресурсам относятся минеральные и термальные воды, лечебные грязи, озокерит, рапа лиманов и озер, морская вода, природные объекты и комплексы с благоприятными для лечения климатическими условиями. Обосновано, что санаторно-курортное лечение является важной частью, обеспечивает непрерывность, преемственность и комплексность лечебных реабилитационных мероприятий. Охарактеризованы основные курорты, расположенные на территории Украины. Определено, что регулирование общественных отношений в сфере организации и развития курортов и санаторно-курортного лечения, выявления и учета природных лечебных ресурсов, обеспечение их рациональной добычи, использования и охраны с целью создания благоприятных условий для лечения, медицинской реабилитации, профилактики заболеваний и отдыха людей обеспечивается экологическим, земельным законодательством, законодательством об охране здоровья и о курортах.

**Выводы.** Правовое регулирование использования природных лечебных ресурсов обеспечивается экологическим, земельным законодательством, охраной здоровья и курортов. Целью этого законодательства является регулирование общественных отношений в сфере организации и развития курортов и санаторно-курортного лечения, выявление и учет природных медицинских ресурсов, обеспечение их рациональной добычи, использования и охраны с целью создания благоприятных условий для лечения, медицинской реабилитации, профилактики заболеваний и оздоровления людей.

Эффективное использование природных лечебных ресурсов в санаторно-курортном лечении населения в настоящее время имеет ряд серьезных проблем экономического, политического, экологического характера, которые должны быть решены с помощью организационно-правовых мер государственного воздействия на указанные правоотношения.

The relevance of the chosen topic of the research has been stipulated by the provisions of Art. 3 of the Constitution of Ukraine, which declared that “An individual, his life and health, honor and dignity, inviolability and security shall be recognized in Ukraine as the highest social value”. Also Art. 49 of the Basic Law lays down that “Everyone shall have the right to health protection, medical care and medical insurance. Health protection should be ensured through state funding of the relevant socio-economic, medical and sanitary, health improvement and prevention programs” [1]. It is an important fact that the legislator defines health as “a state of complete physical, mental and social well-being and not only the absence of illness and physical disabilities (Art. 3 of the Fundamentals of Ukrainian Health Law)” [2]. It is worth recognizing that sanatorium and spa treatment is an important part that provides continuity and complexity of medical rehabilitation measures. This type of treatment and rehabilitation is necessary both for persons with chronic diseases and postoperative patients.

The immutability of natural therapeutic resources in the treatment of population, medical rehabilitation and diseases prevention as well as their legal bases were investigated at the dissertation level by such researches as A. Bobkova, A. Orlov, Yu. Petlyuk, V. Polyakov, O. Tkachenko and other Ukrainian scientists. However, a number of theoretical issues regarding the use of natural therapeutic resources and factors in the spa treatment of the population need further study.

### The aim

To conduct a comprehensive study of the legal regulation peculiarities of natural therapeutic resources and factors

of sanatorium and resort treatment for the population, to identify problems of legal regulation of these relations and to outline the ways to resolve them.

### Materials and methods

The research material is a modern regulatory framework. The methods of information retrieval, analysis, systematization and generalization were carried out.

### Results

The territory of Ukraine is characterized by exceptionally favorable natural and climatic conditions, as well as various resources availability for the treatment of the population. Scientific and technological progress stimulates the continuous improvement of methods of prevention, diagnosis, treatment and rehabilitation.

Almost everything has changed during the last century, but the main point has remained unchanged – the maximum usage of natural therapeutic resources and factors in organizing the process of health improvement for patients. The Law of Ukraine “On Resorts” (Art. 6) refers to mineral and thermal waters, medical mud and ozokerite, sea and lake brine, sea water, natural objects and complexes with favorable climatic conditions suitable for use in treatment, medical rehabilitation and disease prevention [3].

All natural therapeutic resources are divided into:

– especially valuable and unique natural medical resources that can rarely be found on the territory of Ukraine, they have limited distribution or small reserves in the fields and are particularly favorable and effective for use in medical treatment, medical rehabilitation and disease prevention;

### Ключевые слова:

природные ресурсы, санаторий, минеральные воды, лечебные грязи, климат, лечение, медицинская реабилитация, профилактика.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 802–807

– common natural medical resources that can be found in different regions of Ukraine, they have significant reserves and are suitable for use in treatment, medical rehabilitation and prevention of diseases.

Areas with pronounced natural therapeutic factors: mineral springs, climatic and other conditions favorable for the treatment and rehabilitation of people are recognized as spa and health-improving zones (Art. 62 of the Law “On Environmental Protection”) [4].

Resort is an exploited natural territory on the lands of health-improving purposes, which has natural medical resources, buildings and structures with the objects of infrastructure necessary for their exploitation, can be used for the purpose of treatment, medical rehabilitation, prevention of diseases and for recreation and subjected to special protection (Art. 1 Law of Ukraine “On Resorts”) [3].

Occupying 0.01 % of the territory of Ukraine (about 8.6 thousand hectares), the land of health-improving purposes plays an extremely important role as a natural resource with natural healing properties. The natural therapeutic properties of such lands are the availability of natural therapeutic resources within them, which are extremely effective means for the prevention and treatment, as a rule, of widespread human diseases [5].

There are all types of resorts on the territory of Ukraine: balneological, mud, climatic and various combinations: balneo-mud, climatic-balneological and climatic-mud. Medical profile (specialization) of resorts is determined taking into account the properties of natural medical resources. According to its specialization, resorts are divided into general-purpose resorts and specialized resorts for the specific diseases treatment. The Ministry of Health Care (Art. 5 of the Law of Ukraine “On Resorts”) establishes medical profile of resorts [3].

The unique sources of mineral water are the main therapeutic factor in balneological resorts of Ukraine. The mineral waters are unevenly distributed. The largest number of sources is located in the Ukrainian Carpathians: Lviv, Ivano-Frankivsk, Chernivtsi and the Transcarpathian region [6]. More than 12 large deposits of radon water were discovered in the zone of the so-called Ukrainian crystalline shield, a granite platform that crosses Ukraine from the Northwest to the Southeast and covers the Rivne, Zhytomyr, Vinnytsia, Khmelnytskyi, Kyiv and, partially, Cherkasy, Kirovohrad, and Dnipropetrovsk regions.

Mineral water of various compositions is in the Donetsk, Poltava, Kharkiv, Luhansk, Kherson, Odesa, Zaporizhzhia regions and in the Crimea, where thermal water was first obtained during deep drilling (Saky, Moinake, Yevpatoriia).

The most popular resorts in Ukraine are Truskavets, Morshyn, Shklo (the Lviv region), Myrhorod (the Poltava region), Berezhovsky mineral water of the Kharkiv region, as well as Poliana, Soiy, Shaian (the Transcarpathian region). Resorts of Nemirov and Liuben-Velyky in the Lviv region, Cherche in the Ivano-Frankivsk and Syniak in the Transcarpathia region have sources of sulfur-hydrogen water in combination with peat and ozokerite deposits.

Mineral water of the balneological resorts is used for the treatment of gastrointestinal tract, cardiovascular, nervous, respiratory, musculoskeletal system diseases, urological and gynecological diseases, skin diseases, metabolic disorders, occupational diseases, as well as for

the health of pregnant women and children. If joint disease is to be treated, spa therapy should include the use of mineral water both for drinking and bathing.

The main healing factor in balneological resorts is mineral water intake. It produces a unique tonic and curative effect on the human body. Such water has a special composition with a unique combination of minerals and other useful nutrients. Following the indications and dosage, serious illness can be cured and quality of life can be improved. Drinking mineral water, taking healing baths and medical mud is a complex of balneological procedures that relieves fatigue, removes waste and toxins from the body, rejuvenates the skin, and normalizes pressure.

Truskavets is the famous balneological resort of Ukraine. The main treasure of Truskavets is the weakly mineralized hydrocarbonate-calcium-magnesium “Naftusia”. Oil-derived substances add a specific flavor to the water as oil has long been extracted in this area. In total, there are 25 sources in the Truskavets region of which 14 are used with 10 varieties of water compositions. There are 2 pump-rooms in the city [7]. Treatment with mineral water is supplemented by ozokerite procedures.

The Skhidnytsia Balneological Resort is known far beyond Ukraine with its unique mineral water, which has no analogues in Europe. Mineral water Shidnytska “Naftusia” has 38 sources, 17 wells, more than 25 sources that have not been explored yet [8].

Balneological resort Morshyn provides integrated treatment of healing water from three sources, mineral coniferous and iodine-bromine baths and mud. The miraculous properties have given the Morshyn water its name “God’s Mother”, similar to the sanctified Jordanian water. In Morshyn, digestive system, urinary tract, gynecological diseases, metabolic and nervous disorders are treated [9].

The basis of treatment at the resort of Poliana (Svaliava) is the well-known medicinal table waters “Poliana Kvasova” and “Poliana Kupel”. Waters of the Polyana are characterized by a high concentration of minerals and carbon dioxide and a specific taste. The main specialty of Poliana sanatoriums is the digestive organs treatment. Here, without the use of medicines, peptic ulcer disease, gastritis, erosions in remission are treated [10].

Kvasy is incredibly rich in mineral springs with over 80 of them. Local water belongs to the Essentuki type of water, it has been used for treatment since the middle of the XIX century when the first hydrotherapy hospital was opened in the village. According to the chemical composition, Kvasy water is distinguished by the presence of calcium, silicon-iron, hydrocarbon-sodium and hydrogen sulfide. In addition, mineral baths are used for the treatment of various diseases. The resort is specialized in the treatment of musculoskeletal and nervous system diseases [11].

The inalienable basis of treatment at the Shaian resort remains the healing hydrocarbon-sodium-silicon water “Shaianska”. Two varieties of local waters “Shaianska-242” and “Shaianska-4” are characterized by high calcium, magnesium and iron content. The medicinal properties of Shaianska water are close to the known water types “Borjomi” and “Vishy-Seleston”. Shaian water is prescribed for the treatment of chronic gastritis and peptic ulcer, gall bladder and urinary tract diseases, diabetes mellitus, etc. [12].

Bathing in Siniatska mineral water with admixture of hydrogen sulfide is prescribed for musculoskeletal, nervous system and skin diseases, etc [13].

The most famous mineral springs of the Mizhhiria region are Soimivske, Kelechinske, Vuchkivske, Kolochavske and Verkhniostrianske. Soimi resort has been known since the XVIII century. Chloride-hydrocarbonate water of the Soiminsky deposit, saturated with calcium, iron, zinc, manganese, is indicated for the prevention and treatment of digestive system diseases, diabetes mellitus, calcium deficiency, etc. Local water has a beneficial effect on the child's body development. Kolochava village is famous for the largest reserves of mineral water in the Transcarpathia, analogue to which is found only in Kamchatka. Low-mineralized chloride-hydrocarbonate-calcium-magnesium water supplies the body with the necessary micronutrients, eliminates toxins, stimulates the acid-forming function of the stomach. The uppermost layer of mineral water has 3 sources. The source number 3 on the site "Kvass" is characterized by special therapeutic properties. Its carbonic iron and manganese containing water is hydrocarbonate-sodium and -calcium chloride and is effective in the treatment for digestive system diseases [14].

The main therapeutic factors of the resort Myrhorod are peat mud and unique mineral water, which is not inferior to the Baden-Baden and Aachen waters [15].

Khmilnyk resort is unique with special radon water, as well as local peat mud. These are the main factors on which sanatorium and spa treatment is based. In addition, Khmilnyk resort is located in the picturesque area of the forest park, close to the Southern Bug River. The mineral water of Khmilnyk is healing due to the presence of an inert gas radon. It is successfully used for baths (so-called radon baths), as well as for intake [16].

Cherche is a balneological and mud resort in Ukraine. Cherche village stretches through the forest-steppe zone, near the rivers Struh and Potyk. Unique mineral resources containing sulfurous sulphated-hydrocarbonate-calcium and sulfate-calcium water bring glory to the Cherche resort. Sulfate-calcium mineral water is used for drinking and sulfurous sulphated-hydrocarbonate-calcium – for bathing [17].

The resort of Berehove is known for thermal springs, where there are wells with hot mineral water, which are iron-saturated. There are thermal sources of high mineralization in two lakes, analogues of which can be found in Kamchatka and Sakhalin, Iceland and Hungary [18].

One of the oldest resorts in Europe is in the village of Velykyi Lubin. The therapeutic hydrogen sulfide sources of it were described by the personal physician of King Stefan Batory. The main therapeutic factors are hydrogen sulfide water of the type "Matsesta" and peat mud [19].

Medobory is a unique geological and botanical place. Modern Medobory is a real treasure of medical factors. Podilski Tovtry has a beneficial regional climate forcing effect. The height of the ridge and its position create favorable microclimatic conditions for the person. Nature has given this corner a unique underground treasure — healing water. Nowadays, four natural factors are used for medical and preventive purposes: hydrogen sulfide water of the famous "Matsesti", iodine-bromine sodium chloride mineral water of the Morshyn specimen, sulphate-hydrocarbonate peat and blue clay. Procedures using peat moss and ozocerite with

regenerative properties are also popular. In sanatoriums for the treatment of joints, applications of medical ozocerite and mud are practiced. The refined mountain wax is a natural source of many minerals and inorganic compounds, namely mineral oils, potassium, iron, propylene, sulfur, sodium and other useful elements. The tissues supply with the necessary components occurs under the influence of this substance application stimulating regenerative and healing processes [20].

The main positive effects of the medical ozocerite usage are pain syndrome relieving; anti-inflammatory action in the knee joints treatment; resorption of pathological changes occurred in the joint tissues; normalization of impaired blood circulation; prophylaxis of lymphostasis and toxin production.

Ukraine is rich in curative mud deposits, unexpired lichen and lake mud deposits in the Black Sea coasted area – in the Kuialnytsky and Khadzhibei estuaries in Odesa. The second most important reserves of mud are the Crimean mud lakes: Saky, Moinake (Yevpatoriia), Aji-Gol (the territory of Feodosia), Chorkaia lake on the Kerch peninsula, Syvash and others. Mud resorts of Odesa and Crimea are considered the oldest Ukrainian resorts. The Utiuha estuary in Kyrylivka village of the Zaporozhzhia region and the mud lakes of Berdiansk are the largest reservoirs of medicinal mud on the Azov Sea coast.

The Sotolvyn salt lakes are known for mud which is rich in useful trace elements. It is proved that the water of the Sotolvyn lakes is similar in composition and therapeutic properties to the Dead Sea waters. The largest of the Sotolvyn Lakes is the Kunihunda Lake. It appeared in a place of flooded mine building dating back to Austrian times. People who cannot swim are able to do so in salty water because it pushes swimmers to the surface, covering the body with salt crystals. The Sotolvyn lakes water effectively treats cardiovascular, nervous, musculoskeletal system and skin diseases [21].

In addition to mud estuaries and lakes of marine origin, there are a number of salt lakes of continental origin in Ukraine including lakes in Hola Prystan in the Kherson region, salt estuary in the Dnipropetrovsk region and salt lakes in Veisove, Rapne and Slipne in the Slavic resort in the Donetsk region [6].

There is a unique resort in Serhiivka in the Odesa region. This place is special because the estuary with healing mud divides the village into several parts. In particular, the main part of Serhiivka is located on the mainland. To reach the shore you should pass a "kilometer of health" – it is the distance, which stretches across the estuary to the sea. People visit Serhiivka also because of mud. Sanatoriums have been built there with the provision of a full range of therapeutic procedures for the musculoskeletal system [22].

Beaches are important recreational resource. There are many beaches in Ukraine, because a large number of sanatoriums and resort facilities are located on the coasts of the seas and on banks of the rivers and lakes. The seaside is the most popular place. The combination of quality, quantity and nature of climatic conditions, balneological and landscape resources of sea beaches, the sea and coastal waters determine its healing properties.

The detection of natural healing resources is carried out by complex medical-biological, climatological, geologi-

cal-hydrological, resort and other research works. Medico-biological assessment of the quality and value of natural therapeutic resources, determination of their methods usage are carried out by the Ministry of Health care based on research data. According to the results of geological exploration operations, operational reserves of medicinal underground mineral waters, therapeutic mud and other minerals belonging to natural therapeutic resources are approved and introduced into the State Fund of deposits, minerals of Ukraine and provided for use in accordance with the legislation of Ukraine (Article 16 of the Law of Ukraine "On Resorts") [3].

As to the issue of the organizational and legal support of the resort business development, it is important to note that the Strategy of the tourism and resorts development until 2026 was approved by the Cabinet of Ministers of Ukraine, dated 16<sup>th</sup> March 2017, No. 168-p. However, the aforementioned Strategy, firstly, is not performed as to its basic provisions, and, secondly, contains no specific action plans, measures, responsible persons indicated, performance time limits, and therefore has declarative nature. Thirdly, the documents of such importance, in our opinion, should be approved by the legal act in accordance with the Constitution of Ukraine.

The analysis of Art. 85 and 116 of the Constitution of Ukraine proves that the program documents constitute the economic, scientific and technical, social and cultural development of Ukraine and should be adopted by the Verkhovna Rada of Ukraine and prepared by the Cabinet of Ministers of Ukraine. Under Art. 10 of the Law of Ukraine "On State Target Programs", state programs of economic, scientific and technical, social and cultural development and environmental protection are adopted as laws following the relevant proposal of the Cabinet of Ministers of Ukraine.

### Conclusions

1. Legal regulation of the natural therapeutic resources usage is ensured by environmental, land, health care and resorts legislation. The purpose of this legislation is to regulate social relations in the sphere of organization and development of resorts and sanatorium-resort treatment, detection and accounting of natural medical resources, ensuring their rational extraction, use and protection in order to create favorable conditions for treatment, medical rehabilitation, prevention of diseases and vacation for people.

2. The financial and economic crisis, which has aggravated in recent years, the events associated with the annexation of the Autonomous Republic of Crimea and anti-terrorist operations on the territory of the Donetsk and Luhansk regions had a negative impact on the sanatorium and resort structure of our state. In fact, the number of foreign tourists has diminished twice. Ukraine loses its popularity as a health-resort hospital, because the country is perceived as a crisis spot. In addition, the resort development is closely linked to the country's environmental security. Negative influence on the environment is caused by harmful emissions, land pollution by sewage and industrial waste, spontaneous building of sanatorium and resort areas, etc. The natural resources of the health-improvement lands are exposed to enormous anthropogenic impact, caused by the operation of industrial enterprises, utilities, automobile

and marine transport. The current ecological situation has a very devastating effect on the mineral springs and mud deposits state. Enabling favorable environment to enhance the development of spa treatment in accordance with international standards of quality and taking into account European norms will improve the quality of life of the population and harmonious development of the society.

3. Based on the foregoing, we propose to adopt the State Program of the Social and Economic Development of Resorts and Health Tourism, which should be adopted by the Verkhovna Rada of Ukraine, prepared and performed by the Cabinet of Ministers of Ukraine in accordance with the Constitution of Ukraine as well as other legislative documents as important State activities in the public health sector.

4. Such program should include the following:

- increasing availability of resort treatment for the Ukraine population as a significant factor in preserving and restoring physiological and psychological functions, human optimal performance and social activity;
- counteracting the illegal privatization of sanatorium facilities and their illegal development;
- improving the environmental situation in Ukraine in general and within resort areas in particular;
- promoting Ukrainian health tourism in the world, increasing tourist attractiveness of Ukrainian resorts for foreign tourists as a way to uphold the efficiency of unique natural therapeutic resources exploitation in order to achieve significant social and economic effect for the state and society.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 05.09.2019

Після доопрацювання / Revised: 09.09.2019

Прийнято до друку / Accepted: 16.09.2019

### Informations about authors:

Kostytsky V. V., PhD, DSc, Professor of the Theory of Law and State Department, Taras Shevchenko National University, Kyiv. Academician of the National Academy of Legal Sciences of Ukraine, President of the International Association of Medical Law, Kyiv, Ukraine.

Sydor V. D., PhD, DSc, Professor of Constitutional, Administrative and International Law Department, Kyiv Institute of Intellectual Property and Law, National University "Odesa Law Academy", Ukraine.

Kostytska I. O., PhD, Senior Researcher, Deputy Head of the Department, Institute of Legislation of the Verkhovna Rada of Ukraine (Ukrainian Parliament), Kyiv.

### Відомості про авторів:

Костицький В. В., д-р юрид. наук, професор каф. теорії права та держави Київського національного університету імені Тараса Шевченка, дійсний член (академік) Національної академії правових наук України, президент Міжнародної асоціації медичного права, м. Київ, Україна.

Сидор В. Д., д-р юрид. наук, професор каф. конституційного, адміністративного та міжнародного права Київського інституту інтелектуальної власності та права, Національний університет «Одеська юридична академія», Україна.

Костицька І. О., канд. юрид. наук, старший науковий співробітник, заст. завідувача відділу, Інститут законодавства Верховної Ради України, м. Київ.

**Сведения об авторах:**

Костицкий В. В., д-р юрид. наук, профессор каф. теории права и государства Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, действительный член (академик) Национальной академии правовых наук Украины, президент Международной ассоциации медицинского права, г. Киев, Украина.

Сидор В. Д., д-р юрид. наук, профессор каф. конституционного, административного и международного права Киевского института интеллектуальной собственности и права, Национальный университет «Одесская юридическая академия», Украина.

Костицкая И. А., канд. юрид. наук, старший научный сотрудник, зам. зав. отделом, Институт законодательства Верховной Рады Украины, г. Киев.

**References**

- [1] *Konstytutsiia Ukrainy: Zakon Ukrainy vid 28.06.1996 roku №254k/96-VR [The Constitution of Ukraine: Law of Ukraine dated June 28, 1996 №254k/96-VR]*. Retrieved from <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/254k/96-vr>. [in Ukrainian].
- [2] (1992). *Osnovy zakonodavstva Ukrainy pro okhoronu zdorovia: Zakon Ukrainy vid 19.11.1992 roku №2801-XII. [Fundamentals of Ukrainian healthcare legislation: Law of Ukraine from November 19, 1992 №2801-XII]*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2801-12>. [in Ukrainian].
- [3] (2000). *Pro kurorty: Zakon Ukrainy vid 05.10.2000 roku №2026-III. [On resorts: Law of Ukraine from October 5, 2000 № 2026-III]*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/main/2026-14>. [in Ukrainian].
- [4] (1991). *Pro okhoronu navkolyshnoho pryrodnoho seredovyscha: Zakon Ukrainy vid 25.06.1991 roku №1264-XII. [On environmental protection: Law of Ukraine from June 25, 1991 №1264-XII]*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/main/1264-12?lang=uk>. [in Ukrainian].
- [5] Kulynych, P. F. (2008). *Pravovyi rezhym zemel ozdorovchoho pryznachennia [Land legal regime of health purpose]*. *Justinian*, 2, 15-21. [in Ukrainian].
- [6] Goldenberg, N. Ja. (1996). *Kurort Khmelnyk [Khmelnyk resort]*. Kiev: Health. [in Russian].
- [7] *Truskavec. Mineralnye istochniki [Truskavets. Mineral springs]*. Retrieved from <http://www.truskawets.com/istochniki.html>. [in Russian].
- [8] *Skhidnytsia. Mineralni dzherela [Skidnytsya. Mineral springs]*. Retrieved from <http://www.shidnitca.com/index2.html>. [in Ukrainian].
- [9] *Morshyn mineralni vody, ozokeryt [Morshin mineral water, ozokerite]*. Retrieved from <http://www.morshin-ua.com/mistochniki.html>. [in Ukrainian].
- [10] *Kurort Poljana [Polyana health resort]*. Retrieved from <http://www.polyana-info.com/polyanao.html>. [in Russian].
- [11] *Sanatorii Hirska Tysa – Kvasy, Zakarpattia [Girska Tysa health resort – Kvasy, Transcarpathia]*. Retrieved from <https://sanatorii-zakarpattia.com/ua/gornaya-tisa/>. [in Ukrainian].
- [12] *Shajan balneologicheskij kurort [Shayan balneological health resort]*. Retrieved from <http://www.shayan.com.ua/>. [in Russian].
- [13] *Sanatorii Syniak – Zakarpattia [Synyak Health Resort – Transcarpathia]*. Retrieved from <https://sanatorii-zakarpattia.com/ua/sinyak/>. [in Ukrainian].
- [14] *Kurort Mizhhiria [Mizhhiria health resort]*. Retrieved from <http://www.mijgiry.com/>. [in Ukrainian].
- [15] *Kurort «Myrhorod» – tut zhyve zdorovia! [Myrhorod health resort – health lives here!]*. Retrieved from <http://www.mirgorodkurort.ua/uk>. [in Ukrainian].
- [16] *Khmilnyk-balneolohichni kurort [Khmilnyk balneological health resort]*. Retrieved from <http://www.hmilnyk.com.ua/indexua.html>. [in Ukrainian].
- [17] *DP Sanatorii «Cherche» [Public establishment «Cherche health resort»]*. Retrieved from <http://ukrzdrav.com/dp-sanatorii-cherche.html>. [in Ukrainian].
- [18] (2017). *Thermal waters in Berehove review*. Retrieved from <https://destinations.com.ua/wellness/thermal-waters-in-berehove-review>.
- [19] *Sanatorii Liubin Velykyi – Lvivska oblast vidpochynok, likuvannia v sanatorii [Velykyi Liubin sanatorium – Lviv region rest, treatment in the sanatorium]*. Retrieved from <https://sanatori-y-lubin.ua/service/>. [in Ukrainian].
- [20] *Sanatorii «Medobory». Fabryka zdorovia [Medobory health resort . Health factory]*. Retrieved from [http://www.medobory.com.ua/treatment\\_u.html](http://www.medobory.com.ua/treatment_u.html). [in Ukrainian].
- [21] *Solotvyno*. Retrieved from <https://www.karpaty.info/en/uk/zk/tc/solotvyno/>
- [22] *Sergeevka – sanatorii, bazy otdyha, pansionaty. Otdyh i lechenie [Sergeevka –health resorts, recreation centers, residential facilities. Rest and treatment]*. Retrieved from <http://litomore.com.ua/resorts/sergeevka>. [in Russian].

## Clinical and epidemiological features of measles in children hospitalized during two outbreaks (2005–2006 and 2017–2018) in Ukraine

V. V. Yevtushenko<sup>\*A,B,D</sup>, S. O. Kramarov<sup>E,F</sup>, V. O. Shadrin<sup>E</sup>, A. I. Markov<sup>B</sup>, T. M. Kaminska<sup>C</sup>, Ye. O. Hrechukha<sup>E</sup>

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

**Key words:**  
measles, children,  
epidemiologic  
studies.

Zaporozhye  
medical journal  
2019; 21 (6), 808–814

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186607

\*E-mail:  
evv1972@gmail.com

**Aim.** The purpose of this study was to find out the clinical and epidemiological features of measles in children during the outbreak of 2017–2018.

**Materials and methods.** A retrospective study of 230 case histories of children suffering from measles hospitalized in the Kyiv Children's Clinical Hospital was conducted during two epidemic outbreaks in 2005–2006 and 2017–2018.

**Results.** In 2017–2018, the majority of hospitalized children with measles (62.9 %) were school age children. Compared to 2006, the mean age of patients has increased significantly, the proportion of children in the first year of life has significantly decreased and the percentage of children of primary school age (6 to 11 years old) has increased. Compared to 2005–2006, an increase in the duration of fever (from 6.60 to 7.26), shortening of prodromal period (from 3.68 to 2.96) and prolongation of rash period (from 4.97 to 5.88) are characteristic of the course of measles in 2017–2018. Leukopenia was observed in almost every fifth patient. In 14.3 % of patients in 2017–2018, the course of the disease was complicated (the vast majority was associated with respiratory tract organs). Compared to 2005–2006, the structure of patients with measles in 2017–2018 had the proportion of vaccinated patients decreased and, respectively, the percentage of unvaccinated individuals increased: the proportion of unvaccinated patients was 72.1 %; unknown vaccination status – 2.9 %. Approximately 10.0 % of children had only one administration of a measles vaccine.

**Conclusions.** During the current outbreak, school age children and adolescents prevail in the age structure of ill children hospitalized with measles. Compared to 2005–2006, an increase in the duration of fever, shortening of prodromal period and prolongation of rash period are characteristic of the course of measles in 2017–2018. Changes in the clinical and epidemiological features of the disease may be associated with changes in the spectrum of circulating strains of measles virus.

**Ключові слова:**  
кір, діти,  
епідеміологічні  
дослідження.

Запорізький  
медичний  
журнал. – 2019. –  
Т. 21, № 6(117). –  
С. 808–814

### Клінічні та епідеміологічні особливості кору в госпіталізованих дітей під час двох спалахів (2005–2006 і 2017–2018 років) в Україні

В. В. Євтушенко, С. О. Крамарьов, В. О. Шадрін, А. І. Марков, Т. М. Камінська, Є. О. Гречуха

**Мета роботи** – дослідження виявлення клінічних та епідеміологічних особливостей кору в дітей під час спалаху 2017–2018 років.

**Матеріали та методи.** Виконали ретроспективне дослідження 230 історій клінічних випадків дітей, які хворі на кір і госпіталізовані в Київську міську дитячу клінічну інфекційну лікарню під час двох спалахів епідемії кору у 2005–2006 та 2017–2018 роках.

**Результати.** У 2017–2018 р. більшість госпіталізованих дітей із кором (62,9 %) – шкільного віку. Порівняно з 2006 р. середній вік пацієнтів суттєво збільшився, частка дітей на першому році життя істотно зменшилася, а частка дітей молодшого шкільного віку (від 6 до 11 років) значущо збільшилася. Порівняно з 2005–2006 р. під час спалаху 2017–2018 р. характерне збільшення тривалості лихоманки (з 6,60 до 7,26 дня), скорочення продромального періоду (з 3,68 до 2,96 дня), подовження періоду висипання (з 4,97 до 5,88 дня). Лейкопенію спостерігали майже в кожного п'ятого пацієнта. У 14,3 % всіх пацієнтів у 2017–2018 р. захворювання мало перебіг з ускладненнями (здебільшого з боку органів дихання). Порівняно з 2005–2006 р. у структурі хворих на кір у 2017–2018 р. частка вакцинованих хворих зменшилася і, відповідно, відсоток невакцинованих осіб збільшився: частка невакцинованих пацієнтів становила 72,1 %; частка дітей із невідомим вакцинальним статусом – 2,9 %. Майже 10,0 % дітей мали тільки одне введення вакцини проти кору.

**Висновки.** Під час останнього спалаху у віковій структурі дітей із кором, яких госпіталізували, переважають діти та підлітки шкільного віку. Порівняно зі спалахом 2005–2006 р. у 2017–2018 р. встановили збільшення тривалості лихоманки, скорочення продромального періоду та продовження висипання. Зміни клінічних, епідеміологічних особливостей захворювання можуть бути пов'язані зі зміною спектра штамів вірусу кору, що циркулюють.

### Клинические и эпидемиологические особенности кори у госпитализированных детей во время двух вспышек (2005–2006 и 2017–2018 гг.) в Украине

В. В. Евтушенко, С. А. Крамарев, В. О. Шадрин, А. И. Марков, Т. Н. Каминская, Е. О. Гречуха

**Цель работы** – установление клинических и эпидемиологических особенностей кори у детей во время вспышки 2017–2018 годов.

**Материалы и методы.** Выполнено ретроспективное исследование 230 историй клинических случаев детей, страдающих корью и госпитализированных в Киевскую городскую детскую клиническую инфекционную больницу во время двух вспышек эпидемии кори в 2005–2006 и 2017–2018 гг.

**Результаты.** В 2017–2018 г. большинство госпитализированных детей с корью (62,9 %) – школьного возраста. По сравнению с 2006 г. средний возраст пациентов значительно увеличился, доля детей на первом году жизни значительно уменьшилась, а доля детей младшего школьного возраста (от 6 до 11 лет) значительно увеличилась. По сравнению с 2005–2006 г. во время вспышки 2017–2018 г. характерно увеличение продолжительности лихорадки (с 6,60 до 7,26 дня), сокращение продромального периода (с 3,68 до 2,96 дня) и удлинение периода высыпания (с 4,97 до 5,88 дня). Лейкопения отмечена почти у каждого пятого пациента. У 14,3 % пациентов в 2017–2018 г. заболевания протекало с осложнением (большинство – со стороны органов дыхания). По сравнению с 2005–2006 г. в структуре заболевших корью в 2017–2018 г. доля вакцинированных больных уменьшилась и, соответственно, процент вакцинированных лиц увеличился: доля невакцинированных пациентов составила 72,1 %; доля детей с неизвестным вакцинальным статусом – 2,9 %. Примерно 10,0 % детей имели только одно введение вакцины против кори.

**Выводы.** Во время нынешней вспышки в возрастной структуре госпитализированных детей с корью преобладают дети и подростки школьного возраста. По сравнению со вспышкой 2005–2006 г. в 2017–2018 г. характерно увеличение продолжительности лихорадки, сокращение продромального периода и удлинение высыпания. Изменения клинических и эпидемиологических особенностей заболевания могут быть связаны с изменением спектра циркулирующих штаммов вируса кори.

**Ключевые слова:**  
корь, дети,  
эпидемиологические исследования.

Запорожский  
медицинский  
журнал. – 2019. –  
Т. 21, № 6(117). –  
С. 808–814

Measles is a highly contagious disease of viral nature. Before the use of the measles vaccine in 1963 in the United States and the introduction of a large-scale vaccination, epidemic outbreaks were observed every 2–3 years, and the number of deaths from this infection reached approximately 2.6 million people annually. However, even despite the availability of a safe and effective vaccine, this disease remains one of the main causes of death among children throughout the world. In 2016, approximately 89.780 people died as a result of the measles, mostly children under 5 years old [1]. In Ukraine, several epidemic outbreaks of measles infection occurred over the past few years (Fig. 1).

The most powerful outbreak in the last two decades in Ukraine was recorded in 2006, during which 42.724 cases of this disease were registered (Source, date and content of request Consulted experts WHO Regional Office for Europe-Alert and Response Operations Main conclusions and recommendations). According to the Center for Public Health of the Ministry of Health of Ukraine (PHC), more than 41.000 children and adults were affected by measles in the European Region in 6 months of 2018. In seven countries of the European Region (Greece, Georgia, Italy, Russian Federation, Serbia, Ukraine and France), more than 1000 cases of measles in children and adults in each of these countries were recorded. In Ukraine, on the 41st week since the beginning of the year, measles was diagnosed in 33.165 people, including 13.184 adults and 19.981 children (PHC).

The outbreak of measles of 2006 in Ukraine was caused mainly by the measles virus genotype D6 [2]. However, during the last outbreak, which is still ongoing, the circulation of other variants of measles virus including genotypes B3, D8 and D9 is observed on the territory of Ukraine.

We suggested that the emergence of new varieties of measles virus could lead to certain changes in the clinical picture of the disease.

## Aim

The purpose of this study was to find out the clinical and epidemiological features of measles in children during the outbreak of 2017–2018.

## Material and methods

A retrospective study of 230 case histories of children suffering from measles hospitalized in the Kyiv Children's Clinical Hospital (KCCH) was conducted during two epidemic outbreaks in 2005–2006 and 2017–2018.

Mean values (M) and standard deviations (SD) were calculated for data presentation. The difference between the quantitative indicators was determined using the one-way or multivariate ANOVA. In the case of non-compliance with normal distribution and / or insignificant number of variants, the Mann–Whitney test was used; categorical values were analyzed using the odd ratio (OR) and the Chi-square test ( $\chi^2$ ). Statistically significant difference was considered at  $P < 0.05$ .

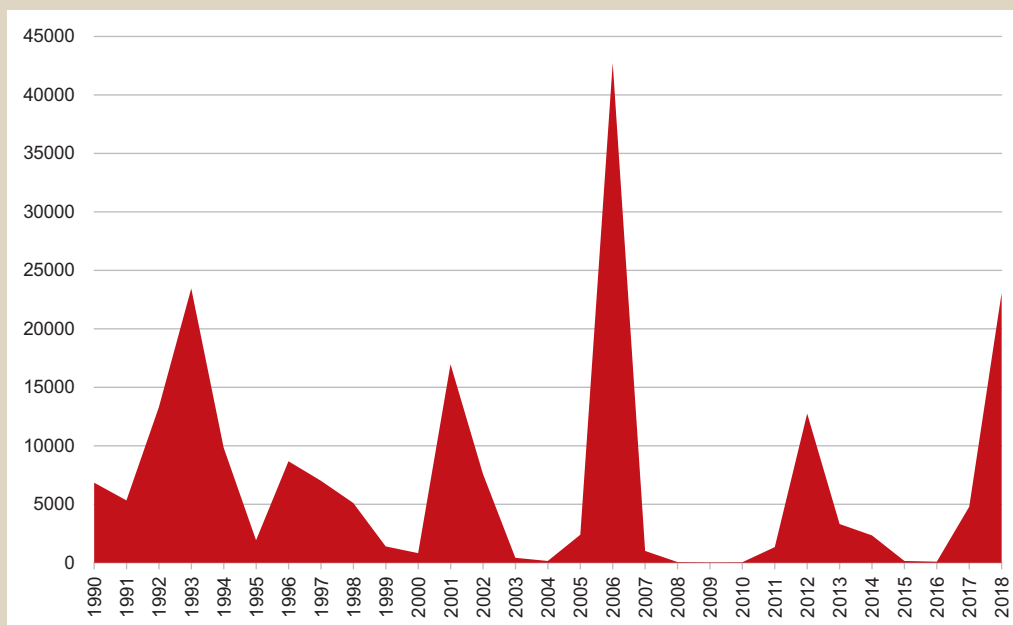
## Results

The diagnosis was based on clinical and epidemiological data (contact with measles patients, a typical clinical aspect), confirmed by PCR studies and the determination of specific IgM antibodies.

Patients were divided into two groups: one group included 90 children hospitalized during 2005–2006; and 140 children during 2017–2018. Age and gender characteristics of patients are presented in Table 1.

In 2017–2018, the majority of hospitalized children with measles (62.9 %) were school age children. Compared to 2006, the mean age of patients has increased significantly, the proportion of children in the first year of life has significantly decreased and the percentage of children of primary school age (6 to 11 years old) has increased ( $P < 0.0001$ ). The gender structure did not change significantly ( $P > 0.05$ ).

In 2017–2018, the proportion of patients unvaccinated against measles was 72.1 % and vaccination status was unknown in 4 (2.9 %) (Table 2). In the group of children of 1 to 2 years old, unvaccinated patients accounted for 75.0 %, 2 to 5 years old – 72.4 %, 6 to 11 years old – 83.3 %, over 12 years old – 55.9 %. Among patients with measles, 21 (15.0 %) were vaccinated in full, while another 14 (10.0 %) children over 6 years old had only one administration of a measles vaccine. The total number of patients who received at least one vaccine was 35 (25.0 %). The largest proportion of children suffering from measles who had a history of



**Fig. 1.** Number of measles patients in Ukraine during 1999–2018 (WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system. 2018 Global summary).

**Table 1.** Age and gender features of measles patients

Feature	2006 (n = 90)	2018 (n = 140)	P
Age, years (M ± SD)	6.12 ± 6.61	7.70 ± 5.33	0.047
0–1 years old (n/%)	24/26.7 %	12/8.6 %	0.0002
1–2 years old (n/%)	15/16.7 %	11/7.9 %	ID
2–5 years old (n/%)	16/17.8 %	29/20.7 %	ID
6–11 years old (n/%)	8/8.9 %	54/38.6 %	<0.0001
>12 years old (n/%)	27/30.0 %	34/24.3 %	ID
Boys (n/%)	42/46.7 %	77/55.0 %	ID
Girls (n/%)	48/53.3 %	63/45.0 %	ID

ID: insignificant difference (P > 0.05).

**Table 2.** Clinical and epidemiological features of patients

Feature	2006 (n = 90)	2018 (n = 140)	P
Vaccination MMR (n/%)	32/35.6 %	35/25.0 %	ID
Inpatient treatment (days)	5.98 ± 2.34	5.98 ± 2.82	ID
Duration of fever (days)	6.60 ± 2.33	7.26 ± 1.88	0.020
Duration of prodromal stage (days)	3.68 ± 1.50	2.96 ± 1.46	0.0002
Duration of rash (days)	4.97 ± 1.12	5.88 ± 1.77	0.0001
Leukopenia (n/%)	20/22.2 %	32/22.9 %	ID
Complications (n/%)	20/22.2 %	18/12.9 %	ID
Concomitant pathology (n/%)	13/14.4 %	19/13.6 %	ID

**Vaccination MMR:** documented administration of at least one vaccine dose; **Complications:** number and percent of patients with complicated course; **Concomitant pathology:** number of patients with concomitant pathology; **ID:** insignificant difference (P > 0.05).

vaccination was observed in the group of children over 12 years old – 44.1 %, the smallest – in the group of children of 6–11 years old – 16.7 %. Compared to 2005–2006, the structure of patients with measles in 2017–2018 had the proportion of vaccinated patients decreased and, respectively, the percentage of unvaccinated individuals increased.

The duration of inpatient treatment in 2017–2018 varied from 1 to 19 days (5.96 ± 2.85, M ± SD). Compared to 2005–2006, the mean duration of inpatient treatment did not change significantly (Table 2). The duration of

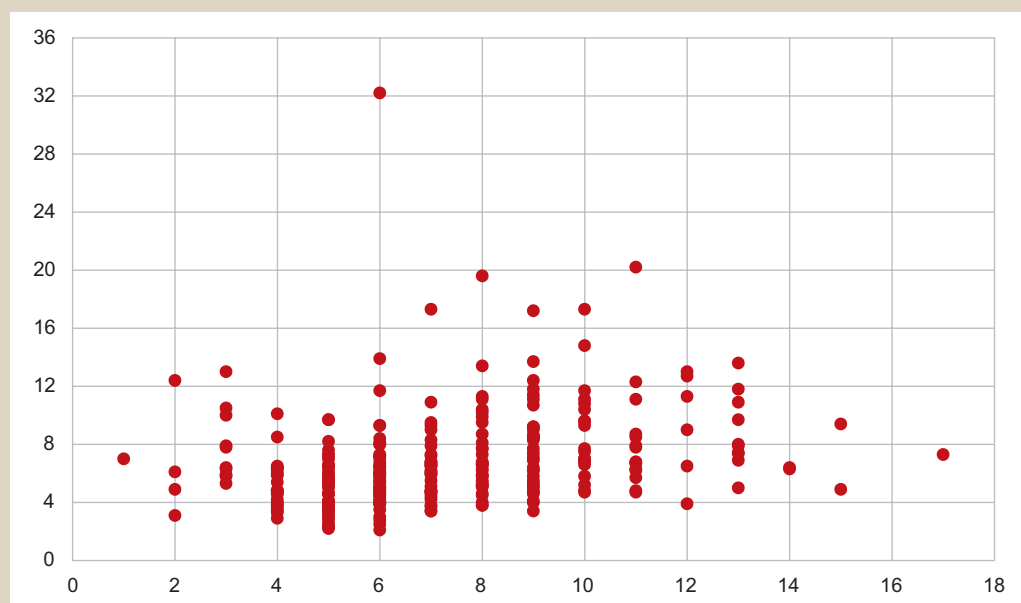
inpatient treatment did not significantly depend on the age of patients: it was 5.57 ± 2.10 days (2 to 12 days) in children in the first year of life, 5.63 ± 3.97 days (1 to 19 days) in 1–2-year-old children, 6.07 ± 1.96 days (2 to 11 days) in 2–5-year-old children, 6.02 ± 2.39 days (1 to 16 days) in 6–11-year-old children, 6.26 ± 2.88 days (1 to 16 days) in children over 12 years old. Among children vaccinated against measles (at least 1 dose of the vaccine), the duration of stay in the hospital was 6.03 ± 2.44 days (1 to 14 days), among non-vaccinated – 5.94 ± 2.75 days (1 to 19 days) (P > 0.05). The duration of stay in a hospital was significantly longer in patients with the complicated course of measles – 8.10 ± 2.93 days compared to patients without complications – 5.53 ± 2.35 days (P = 0.00001).

Classic triad – conjunctivitis, cough and runny nose – was present in 79.1 % of patient. Conjunctivitis was observed in 85.7 % of patients, cough – in 96.1%, runny nose – in 87.8 %. Another known symptom of measles infection, the Koplik’s spots, was documented in 90.0% of patients.

Fever was observed in all patients. There was no significant difference in the level of fever between different age groups (P > 0.05). In children vaccinated with at least one dose of measles vaccine, the body temperature was 39.3 ± 0.6 °C (37.5 to 40.0 °C), the duration of the fever was 6.6 ± 1.74 days (1 to 10 days). In unvaccinated patients, respectively, the body temperature was 39.3 ± 0.55 °C (38.0 to 40.5 °C), duration was 7.5 ± 1.92 days (4 to 13 days) – significantly longer (P = 0.018). Compared to 2005–2006, the mean duration of fever significantly increased in children undergoing treatment in 2017–2018 (Table 2).

The average duration of the prodromal period in patients with measles in 2017–2018 was significantly shorter compared to 2005–2006 data (Table 2). We observed a decrease in the duration of this period in all age groups. Moreover, we did not find a significant relationship between the duration of the prodromal period and age: among all patients (2005–2006 and 2017–2018), the mean duration





**Fig. 2.** Leukocyte count ( $\times 10^9$  Y-axis) depending on the day of disease onset (X-axis).

in children in the first year of life was  $3.1 \pm 1.55$  days (1 to 6 days), 1–2 years old:  $3.4 \pm 1.62$  days (1 to 7 days), 2–5 years old:  $3.3 \pm 1.30$  days (1 to 6 days), 6–12 years old:  $3.1 \pm 1.56$  ( $P > 0.05$ ). Among unvaccinated individuals, the prodromal period lasted  $3.2 \pm 1.47$  days (1 to 8 days) and was significantly longer than that in patients vaccinated with minimum one single administration of measles vaccine:  $2.4 \pm 1.31$  days (1 to 6 days) ( $P = 0.004$ ).

Rash was present in all patients. In all cases, the rash was maculopapular with a tendency to fuse. In 97.0 % of patients, there was a progression of rash with characteristic distribution from the head to the distal parts of limbs. In all patients, the spread of rash lasted 2–3 days. The rash was present on the skin for an average of 5.55 days (3 to 12 days). In comparison with 2005–2006, the duration of rash was significantly longer in 2017–2018. The duration of rash did not significantly depend on the vaccination status and was  $5.63 \pm 1.73$  days (3 to 12 days) in unvaccinated patients and  $5.30 \pm 1.30$  days (3 to 10 days) in vaccinated patients (at least one vaccine) ( $P > 0.05$ ). At the same time, according to the results of our observation, the duration of rash depended on the child's age. In children in the first year of life, the duration of rash was  $4.96 \pm 1.29$  days, in 1–2 year-old patients:  $6.09 \pm 2.11$  days, in 2–5 year-old patients:  $5.60 \pm 1.29$  days, in 6–11 year-old patients:  $6.02 \pm 1.78$  days, in patients over 12 years old:  $5.13 \pm 1.44$  days ( $P = 0.0058$ ).

The count of peripheral blood leukocytes in patients in 2017–2018 ranged from 2.1 to 32.2 G/L. In 96.3 % of patients in the first study, there was a shift of neutrophils towards their young forms. The percentage of stab neutrophils in the first study on the first day of hospitalization ranged from 1 to 37 % ( $15.2 \pm 7.42$  %). Leukocyte count depending on the day of examination is shown in Fig. 2. A decrease in the number of leukocytes was observed predominantly during days 4–6 of the disease. An elevated leukocytes count (more than 9 G/L) was typical in the interval from days 6 to 13 from the onset of the disease.

Leukopenia, one of the most common laboratory symptoms of measles, was observed in almost every fifth

patient in both 2005–2006 and 2017–2018. Overall, among patients examined in 2017–2018, leukopenia (leukocyte count  $< 4$  G/L) was observed in 38 patients. Leukopenia was recorded in patients from 2 to 12 days from the onset of the disease ( $5.6 \pm 1.72$  days). Leukopenia was recorded in patients of all age groups from 11 months to 17 years 11 months old ( $8.8 \pm 5.01$  years). There was no significant difference depending on vaccination status.

In 22.2 % of patients in 2005–2006 and in 14.3 % of patients in 2017–2018, the course of the disease was complicated (Table 2). The incidence among children in the first year of life was 16.7 %, in the age group from 1 to 2 years old: 23.1 %, in 2–5-year old patients: 17.8 %, in 6–11-year old patients: 11.3 %, in patients over 12 years old: 21.3 % (frequency depending on age was not significant). The incidence of complications was 18.1 % among unvaccinated patients and 15.7 % among vaccinated ones (at least 1 vaccine),  $OD = 1.09$  (0.51–2.34). Table 3 presents the spectrum and frequency of individual complications.

Bronchitis was observed in 8 children, of whom 3 patients were of the first year of life, 2 patients of 2 to 5 years old, 2 patients of 6 to 11 years old and 1 patient over 12 years old.

Pneumonia complicated the course of measles in seven patients. In all cases, this was a secondary bacterial complication. The durations of pneumonia were within 4–6 days (median – 6 days). In all cases, pneumonia was confirmed radiologically. One patient had pneumonia complicated by pleuritis. Three children had pneumonia accompanied by respiratory insufficiency and the use of supportive oxygen therapy was required. Bacterial complications from ENT organs occurred in 11 patients. Among them, there were six cases of sinusitis and five cases of otitis media. All cases were registered among children over 6 years old. The frequency of respiratory organ complications in 2018 did not differ significantly from the data for 2006.

Gingivostomatitis was observed in six patients of early age (under 2 years old) in 2005–2006. In 2017–2018, such

**Table 3.** Features of complications in patients with measles

Complications	2005–2006 (n = 90)	2017–2018 (n = 140)	P
Bronchitis	5/5.56 %	3/2.14 %	ID
Hepatitis	0	2/1.43 %	ID
Retinal dystrophy	1/1.11 %	0	ID
Diarrhea	4/4.44 %	0	0.023
Respiratory failure	0	3/2.14 %	ID
Encephalitis	0	2/1.43 %	ID
Cardiomyopathy	0	1/0.71 %	ID
Otitis	1/1.11 %	4/2.86 %	ID
Pneumonia	4/4.44 %	4/2.86 %	ID
Sinusitis	1/1.11 %	5/3.57 %	ID
Stomatitis	6/6.67 %	0	0.003
Febrile seizures	1/1.11 %	0	ID
Total	22/24.44 %	23/15.71 %	ID

**Hepatitis:** increase in ALT > 2N. ID: insignificant difference (P > 0.05).

cases were not observed among studied patients. Among patients of 2005-2006, manifestations of gastroenteritis were observed in four cases.

In 2018, we observed two patients with CNS damage. Among them, a girl of 5.5 years old, unvaccinated against measles, whose disease started suddenly with a temperature rise to febrile values, the appearance of catarrhal phenomena. On the 3rd day of the disease, a maculopapular rash appeared on the face that spread throughout the body during the next 24 hours. On the 5th day, the general condition of the child worsened, she became sleepy, refused to eat, could not rise from the bed without help, pain in the legs and back appeared, while the rash on the skin at that time disappeared. On the 6th day of the disease, during the examination, an impairment of consciousness was recorded (score 13 based on the Glasgow Coma Scale, E4V4M5); the physical examination showed positive meningeal symptoms (rigor of the occipital muscles, Kernig's and Brudzinski's signs), symptoms of spinal nerve roots tension (Neri's sign). The child was not accessible for the productive contact. The face was symmetrical. The bulbar group of the cranial nerves was not impaired. Pupils D = S, moderately expanded, photoreaction was preserved, conjugate. General muscular hypotonia. Abdominal reflexes were absent. There were no seizures and vomit. Body temperature was 36.4–36.6. Microcirculation was not affected. Breathing was spontaneous, effective, biomechanics was not impaired, with the support of humidified oxygen through a face mask. Heart rate was 58–86/min, blood pressure was 103/41–83/48 mmHg. Peristalsis was preserved. There was no self-defecation. Diuresis was sufficient at 3 ml/kg/hr. During the next 3 days, the state of consciousness deteriorated. At day 8 of the disease, a result of measles-specific IgM study was obtained. On the day 9 of the disease, the level of consciousness was 9 based on the Glasgow Coma Scale (E4V1M4), bradycardia increased to 44/min, there was a decrease in blood pressure to 65/40 mmHg. Cerebrospinal fluid analysis revealed slight lymphocytic pleocytosis, while a MRI study showed scattered focal changes. From the 10<sup>th</sup> day of the disease, there was a gradual improvement of the child's condition. Restoration of consciousness was observed on day 12. During discharge from the hospital on the 18<sup>th</sup> day of the disease, the child had

minor manifestations persisted in the form of a decrease in muscular strength in the limbs, increased fatigue.

Another child, an 11-year-old girl, was hospitalized to the KCCH with an impairment of consciousness (score 9 according to the Glasgow Coma Scale, E4V1M4). No impairments of the cranial nerves were observed. Abdominal reflexes were not activated. Muscle tone was lowered. Breathing was spontaneous, effective. Hemodynamics was stable. The disease history showed that the child suffered from measles at the age of 9 months old. 1.5 years ago, the girl suddenly began having her motor function impaired in the form of spontaneous tremor of hands, inclination of her head to the right, episodes of involuntary falls up to 30 times a day. Subsequently, there were periods of deterioration and improvement of her neurological status. Four days before hospitalization in our clinic, the child became sleepier, the intensity of myoclonus and hallucinatory reactions increased. On the day of hospitalization, the child had consciousness impaired to the level of a sopor (score 9 according to the Glasgow Coma Scale, E4V1M4), and lymphocytic pleocytosis was detected in the cerebrospinal fluid. MRI of the brain showed signs of periventricular leukoariosis. The results of the cerebrospinal fluid test for the markers of toxoplasmosis, CMV, EBV, VZV, HSV1/2, HHV 6–7 (PCR) were negative, but a high titer of IgG antibody to measles virus was detected. The child received empirical antiviral therapy (acyclovir), immunomodulatory therapy (corticosteroids, intravenous immunoglobulin), supportive and symptomatic agents. However, despite the treatment, the condition of the child progressively deteriorated with the gradual development of multiple organ failure. On the day 18 of inpatient treatment, the patient had a cardiac arrest associated with increased cardiac insufficiency and the development of DIC-syndrome, and death of the patient was recorded.

Manifestations of liver damage were observed in two patients in 2017–2018. They showed an increase in transaminases, including an increase in ALT of more than two normal values. There were no clinical manifestations of hepatic dysfunction in these patients. In both cases, a spontaneous normalization of the ALT level was observed, the duration of hypertransferasemia did not exceed 10 days.

Concomitant pathology in patients with measles was found to be practically identical in 2006 and 2018 (Table 2). We took into account both the premorbid condition and the cases of acute diseases that developed during the stay of patients with measles in the hospital and were not associated with the underlying disease by causative relationships. Concomitant pathology was represented by a broad spectrum of chronic and acute diseases, among which allergic dermatitis was most common (5 cases), congenital heart disease (3 cases), chicken pox (3 cases), deficiency anemia (3 cases), ascariasis (2 cases), bronchial asthma (2 cases). Among other rare cases, patients with HIV infection, epilepsy, hemophilia, diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, and urinary tract infections should be noted. We found that the presence of concomitant pathology was associated with a higher frequency of complications. On the background of concomitant pathology, the incidence of complications was 34.4 %, and in children without concomitant pathology – 15.7 % (P = 0.006,  $\chi^2$  test).

## Discussion

The measles incidence depends on many factors, among which the level of coverage by prophylactic vaccination is the key. After the introduction of planned measles vaccination in Ukraine in 1966–1967 and revaccination in 1986, the incidence rate decreased significantly, the proportion of children in the structure of patients decreased and inter-epidemic intervals increased to 5–6 years. However, after 2008, the coverage rate for measles vaccination in Ukraine declined to less than 95 %, reaching a minimum in 2017–2018. In particular, according to WHO, the first dose of measles vaccine in 2017–2018 was received by 42 % of children, while the second dose of the vaccine was received by only 31 % of children [3]. The results of this study indicate that the majority of patients were unvaccinated individuals, and, accordingly, the cause of epidemic surge is a decrease in the coverage by scheduled vaccination.

The hospitalization of children with measles infection and the duration of stay in a hospital is usually conditioned both by clinical and epidemiological indications. We did not see any significant changes in the length of hospital stay between patients in 2005–2006 and 2017–2018. Also, the observation showed that the duration of inpatient treatment did not significantly depend on the age of patients and their vaccination status. The only factor that had a reliable connection with the extension of the time of inpatient treatment was a complicated course of measles. Our results regarding this indicator do not differ significantly from the data of other studies. In particular, 13 years ago in China, Lee K-Y. who analyzed the data of three epidemic outbreaks during 1989–2001 (a total of 520 patients) reported the duration of inpatient treatment ranged from 5.7 to 6.4 days. In another his study, a relationship between clinical features of measles was studied, in particular the duration of inpatient treatment, the age of patients. According to the results, the mean stay in a hospital lasted from 5.1 to 6.0 days and did not depend on the age of children.

The fever has been selected as a clinical criterion for infection, since it can be objectified and generally reflects the duration of the acute period of an infectious disease. The results of our observation demonstrated some regularities of this symptom. In particular, according to our data, the duration of fever in vaccinated patients was significantly shorter than that in unvaccinated ones. In addition, we noted that the duration of the fever in patients with measles in 2018 has increased significantly compared to 2006. These changes were not related to changes in age structure, complications development and percentage of vaccinated people. In our opinion, this tendency may be due to changes in the etiological pattern, in particular the circulation of non-traditional genotypic variants of the virus for this territory.

Other interesting features of the clinic of measles in 2017–2018, compared to the previous epidemic period, were a relative reduction in the prodromal period and prolonged duration of rash. In particular, a reduction in the duration of the prodromal period was observed in all age groups of patients. This tendency could be even more pronounced, because the proportion of unvaccinated children, who, according to our data, are characterized by a longer prodromal period, has increased in the structure of patients since 2017–2018.

As for the duration of rash, we have established that it depended on the age of patients. According to the results of our observation, it was relatively shorter in children in the first year of life and in patients over 12 years old. Taking into account that the proportion of children of the first year of life in the structure of patients relatively decreased and the number of children from 2 to 11 years increased, it is reasonable to assume that the lengthening of rash duration may be related, in particular, to the change in the age structure of patients.

An important pathogenetic feature of measles is suppression of the immune system. It is associated with the development of secondary complications and the severity of the course of the disease. Although the mechanism of immune suppression has not been fully understood yet, the leading links include the impairment of lymphocyte proliferation, suppression of hemopoiesis, damage of immunological memory and the destruction of the epithelial barrier [4–7]. Leukopenia, the most known manifestation of immune suppression, correlates with the time of appearance and severity of viremia [5]. According to our observation, leukopenia was observed in more than 22 % of patients. More often, the decrease in the number of leukocytes was recorded 4–6 days of the disease.

The immunosuppressive effect of measles virus is directly related to the development of complications. The most important and frequent complications of measles is pneumonia, the frequency of which according to various studies varies from 14 % to 66 % [8,9]. Among our patients, pneumonia was also a relatively frequent complication, but its frequency did not exceed 4.5 %. This is probably due to broader indications for hospitalization in our clinic, which do not restrict the stay of patients with non-severe forms of the disease in the inpatient facility. In particular, in the city of Kyiv, more than 70 % of measles patients were hospitalized during the epidemic outbreak of 2018.

Impairments of the nervous system are among the most severe complications in measles [10]. Their development is possible due to direct damage by the virus, immune-mediated damage (post-infection encephalitis) as well as in the form of subacute sclerosing panencephalitis [11]. Among our patients, we observed a case of postinfectious meningoencephalitis and subacute sclerosing panencephalitis. The second one is generally more difficult for correct diagnosis due to a very long period between primary disease (measles) and its neurological complication [12].

Common complications of measles are also considered to be liver damage. The manifestations of this complication may vary from subclinical change in laboratory parameters to manifestations of fulminant hepatitis (especially in infants [13]). According to published studies, hepatitis and liver dysfunction are more common in children over 15 years old and in adults. The frequency of this complication can reach as much as 80 % [11–14]. In our observation, manifestations of hepatitis were recorded in two patients. Both belonged to the age group of older children (15 and 17 years old). In both cases, liver changes were limited to an increase in transaminases and were not accompanied by clinical symptoms.

A classic complication of measles is thought to be diarrhea. Previous studies indicate that the frequency of this

complication in patients with measles varies according to some data but can be very serious [12–15]. We observed the manifestations of gastroenteritis in four patients who belonged to the category of early age children. All these cases were recorded among patients during the epidemic breakout of 2005–2006. No diarrhea was observed among patients in 2017–2018.

## Conclusions

1. During the current outbreak, school age children and adolescents prevail in the age structure of ill children hospitalized with measles.

2. Compared to 2005–2006, an increase in the duration of fever, shortening of prodromal period and prolongation of rash period are characteristic of the course of measles in 2017–2018.

3. Changes in the clinical and epidemiological features of the disease may be associated with changes in the spectrum of circulating strains of measles virus.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 15.03.2019  
Після доопрацювання / Revised: 08.04.2019  
Прийнято до друку / Accepted: 19.04.2019

## Information about authors:

Yevtushenko V. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.  
Kramarov S. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.  
Shadrin V. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.  
Markov A. I., MD, Postgraduate student of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.  
Kaminska T. M., MD, PhD, DSc, Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.  
Hrechukha Ye. O., MD, Senior Laboratory Assistant of the Department of Pediatric Infectious Diseases, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

## Інформація про авторів:

Євтушенко В. В., канд. мед. наук, доцент каф. дитячих інфекційних хвороб, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
Крамарьов С. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дитячих інфекційних хвороб, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
Шадрин В. О., канд. мед. наук, асистент каф. дитячих інфекційних хвороб, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
Марков А. І., аспірант каф. дитячих інфекційних хвороб, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
Камінська Т. М., д-р мед. наук, асистент каф. дитячих інфекційних хвороб, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.  
Гречуха Є. О., старший лаборант каф. дитячих інфекційних хвороб, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

## Сведения об авторах:

Евтушенко В. В., канд. мед. наук, доцент каф. детских инфекционных болезней, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.  
Крамарев С. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. детских инфекционных болезней, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.  
Шадрин В. О., канд. мед. наук, ассистент каф. детских инфекционных болезней, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.  
Марков А. И., аспирант каф. детских инфекционных болезней, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.  
Каминская Т. Н., д-р мед. наук, ассистент каф. детских инфекционных болезней, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.  
Гречуха Е. О., старший лаборант каф. детских инфекционных болезней, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

## References

- [1] World Health Organization (WHO) (2018). Measles. Key facts. Retrieved from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/measles>
- [2] Santibanez, S., Hübschen, J., Ben Mamou, M., Muscat, M., Brown, K., & Myers, R. et al. (2017). Molecular surveillance of measles and rubella in the WHO European Region: new challenges in the elimination phase. *Clinical Microbiology And Infection*, 23(8), 516-523. doi: 10.1016/j.cmi.2017.06.030
- [3] World Health Organization (WHO) (2018). Ukraine restores immunization coverage in momentous effort to stop measles outbreak that has affected more than 12 000 this year. Retrieved from <http://www.euro.who.int/en/countries/ukraine/news/news/2018/05/ukraine-restores-immunization-coverage-in-momentous-effort-to-stop-measles-outbreak-that-has-affected-more-than-12-000-this-year>
- [4] Ludlow, M., McQuaid, S., Milner, D., de Swart, R., & Duprex, W. (2015). Pathological consequences of systemic measles virus infection. *The Journal Of Pathology*, 235(2), 253-265. doi: 10.1002/path.4457
- [5] de Vries, R., & de Swart, R. (2014). Measles immune suppression: functional impairment or numbers game? *Plos Pathogens*, 10(12), e1004482. doi: 10.1371/journal.ppat.1004482
- [6] Laksono, B., de Vries, R., McQuaid, S., Duprex, W., & de Swart, R. (2016). Measles Virus Host Invasion and Pathogenesis. *Viruses*, 8(8), 210. doi: 10.3390/v8080210
- [7] Laksono, B., Grosserichter-Wagener, C., de Vries, R., Langeveld, S., Brem, M., & van Dongen, J. et al. (2018). In Vitro Measles Virus Infection of Human Lymphocyte Subsets Demonstrates High Susceptibility and Permissiveness of both Naive and Memory B Cells. *Journal Of Virology*, 92(8), e00131-18. doi: 10.1128/jvi.00131-18
- [8] Grammens, T., Schirvel, C., Leenen, S., Shodu, N., Hutse, V., Mendes da Costa, E., & Sabbe, M. (2017). Ongoing measles outbreak in Wallonia, Belgium, December 2016 to March 2017: characteristics and challenges. *Eurosurveillance*, 22(17). doi: 10.2807/1560-7917.es.2017.22.17.30524
- [9] Ge, Y., Zhai, X., Zhu, Y., Wang, X., Xia, A., Li, Y., & Zeng, M. (2017). Measles Outbreak in Pediatric Hematology and Oncology Patients in Shanghai, 2015. *Chinese Medical Journal*, 130(11), 1320-1326. doi: 10.4103/0366-6999.206358
- [10] Griffin, D. (2014). Measles virus and the nervous system. *Neurovirology*, 577-590. doi: 10.1016/b978-0-444-53488-0.00027-4
- [11] Fisher, D., Defres, S., & Solomon, T. (2015). Measles-induced encephalitis. *QJM*, 108(3), 177-182. doi: 10.1093/qjmed/hcu113
- [12] Wendorf, K., Winter, K., Zipprich, J., Schechter, R., Hacker, J., & Preas, C. et al. (2017). Subacute Sclerosing Panencephalitis: The Devastating Measles Complication That Might Be More Common Than Previously Estimated. *Clinical Infectious Diseases*, 65(2), 226-232. doi: 10.1093/cid/cix302
- [13] Sati, S., Banga, S., & Bhadouria, S. (2018). Fulminant Hepatic Failure in Measles in a 6-Month-Old Child. *International Journal Of Clinical Pediatrics*, 7(1-2), 17-18. doi: 10.14740/ijcp294w
- [14] Caseris, M., Houhou, N., Longuet, P., Rioux, C., Lepeule, R., & Choquet, C. et al. (2014). French 2010–2011 measles outbreak in adults: report from a Parisian teaching hospital. *Clinical Microbiology And Infection*, 20(4), O242-O244. doi: 10.1111/1469-0691.12384
- [15] Jackson, B., & Black, R. (2017). Available studies fail to provide strong evidence of increased risk of diarrhea mortality due to measles in the period 4–26 weeks after measles rash onset. *BMC Public Health*, 17(S4). doi: 10.1186/s12889-017-4745-2

## Experimental evaluation of the specific activity of the new Angiolin dosage form in the research corneal burn's condition

I. F. Bielenichev<sup>\*1,A,E</sup>, L. I. Kucherenko<sup>1,2,F</sup>, I. A. Mazur<sup>1,2,F,E</sup>, R. R. Akopian<sup>1,B,C,D</sup>,  
O. V. Khromylova<sup>1,E</sup>, I. V. Pavliuk<sup>3,E</sup>

<sup>1</sup>Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, <sup>2</sup>SPA "Farmatron", Zaporizhzhia, Ukraine, <sup>3</sup>Zaporizhzhia Research Experimental Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

Visual organ injuries are still one of the main causes of blindness and occupational disability. Despite the good protection of the eyeball by the bone walls of the orbit and adnexa oculi, its injuries are 5–10 % of the total number of all damages in peacetime and about 20 % in wartime. Employees of the Department of Pharmaceutical Chemistry of Zaporizhzhia State Medical University (ZSMU) together with the specialists of the SPA "Farmatron" under the supervision of professor I. A. Mazur synthesized a new compound, called Angiolin.

**The aim** of the research is to study the anti-inflammatory, wound-healing, reparative activity of the Angiolin eye drops action during a chemical burn of the cornea rabbits modeling.

**Materials and methods.** The pharmacological efficacy of the prepared Angiolin eye drops in concentrations: 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, 2.0 % and 2.5 % has been studied. All studies were carried out on 40 eyes of 20 Chinchilla breed rabbits of both sexes weighing 2.1–3.5 kg. The chemical burn model was reproduced according to the Obenberger method using 10 % sodium hydroxide solution (application of 8 mm blotting paper), exposure time 20 seconds, after preliminary installation anesthesia with 0.5 % Alcaine solution.

**Results.** Based on experimental data, it can be noted that Angiolin eye drops in concentrations: 1.0 %, 1.5 %, 2.0 %, 2.5 % show almost the same pharmacological activity, and 1 % Angiolin eye drops were the most effective, that gives us the opportunity for further study.

**Conclusions.** Angiolin eye drops exhibit high anti-inflammatory, wound healing, reparative activity in the treatment of eye burn. As a result of the study, it was found that 1 % of Angiolin eye drops turned out to be the most effective. The obtained results are an experimental rationale for further study of 1 % Angiolin eye drops.

### Key words:

(S)-2,6-diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate, thiotriazolone.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 815–819

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186626

\*E-mail:  
i.belenichev1914@gmail.com

## Експериментальне оцінювання специфічної активності нової лікарської форми Ангіолін в умовах хімічного опіку рогівки

І. Ф. Беленічев, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, Р. Р. Акопян, О. В. Хромильова, І. В. Павлюк

Пошкодження органу зору залишаються однією з основних причин сліпоты та професійної інвалідності. Незважаючи на захищеність очного яблука кістковими стінками орбіти та придатками ока, його пошкодження становлять 5–10 % від загальної кількості всіх травм у мирний час і майже 20 % у воєнний. Співробітники кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету (ЗДМУ) спільно з фахівцями НВО «Фарматрон» під керівництвом професора І. А. Мазура синтезували нову сполуку, що отримала назву Ангіолін.

**Мета** роботи – дослідження протизапальної, ранозагоювальної, репаративної дії очних крапель Ангіолін під час моделювання хімічного опіку рогівки очей кроликів.

**Матеріали та методи.** Вивчили фармакологічну ефективність приготованих очних крапель Ангіолін у концентраціях 0,5 %, 1 %, 1,5 %, 2,0 % і 2,5 %. Усі дослідження виконали на 40 очах 20 кроликів породи шиншила обох статей масою 2,1–3,5 кг. Модель хімічного опіку відтворена за методом Обенберґера за допомогою 10 % розчину натрію гідроксиду (аплікацією 8 мм кола фільтрувального паперу), час експозиції – 20 секунд після попередньої інсталяційної анестезії 0,5 % розчином алкаїна.

**Результати.** Виходячи з експериментальних даних, очні краплі Ангіолін у концентраціях 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5 % виявляють майже однакову фармакологічну активність, а найбільш ефективними виявилися 1 % очні краплі Ангіолін, що зумовлює перспективність продовження їх вивчення.

**Висновки.** Очні краплі Ангіолін виявляють високу протизапальну, ранозагоювальну, репаративну активність під час лікування опіків очей. У результаті досліджень встановили, що найбільш ефективними виявилися 1 % очні краплі Ангіолін. Результати є експериментальним обґрунтуванням дальшого вивчення 1 % очних крапель Ангіолін.

### Ключові слова:

(S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат, тіотриазолін.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 815–819

## Експериментальная оценка специфической активности новой лекарственной формы Ангиолин в условиях химического ожога роговицы

И. Ф. Беленичев, Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур, Р. Р. Акопян, О. В. Хромилёва, И. В. Павлюк

Повреждения органа зрения остаются одной из основных причин слепоты и профессиональной инвалидности. Несмотря на хорошую защищенность глазного яблока костными стенками орбиты и придатками глаза, его повреждения составляют

**Ключевые слова:** (S)-2,6-диаминогексановой кислоты 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, тиотриазолин.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 815–819

5–10 % от общего количества всех травм в мирное время и около 20 % в военное. Сотрудники кафедры фармацевтической химии Запорожского государственного медицинского университета (ЗГМУ) совместно со специалистами НПО «Фарматрон» под руководством профессора И. А. Мазура синтезировали новое соединение, получившее название Ангиолин.

**Цель работы** – изучить противовоспалительное, ранозаживляющее, репаративное действие глазных капель Ангиолин при моделировании химического ожога роговицы глаз кроликов.

**Материалы и методы.** Изучили фармакологическую эффективность приготовленных глазных капель Ангиолин в концентрациях 0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 % и 2,5 %. Все исследования выполнены на 40 глазах 20 кроликов породы шиншилла обоих полов массой 2,1–3,5 кг. Модель химического ожога воспроизведена по методу Обенбергера при помощи 10 % раствора натрия гидроксида (аппликацией 8 мм круга фильтровальной бумаги), время экспозиции – 20 секунд после предварительной инсталляционной анестезии 0,5 % раствором алкаина.

**Результаты.** Исходя из экспериментальных данных, глазные капли Ангиолин в концентрациях 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5 % проявляют практически одинаковую фармакологическую активность, а наиболее эффективными оказались 1 % глазные капли Ангиолин, что обуславливает перспективность их дальнейшего изучения.

**Выводы.** Глазные капли Ангиолин проявляют высокую противовоспалительную, ранозаживляющую, репаративную активность при лечении ожогов глаз. В результате исследований установили, что наиболее эффективными оказались 1 % глазные капли Ангиолин. Результаты являются экспериментальным обоснованием для дальнейшего изучения 1 % глазных капель Ангиолин.

Visual organ injuries are still one of the main causes of blindness and occupational disability. Despite the good protection of the eyeball by the bone walls of the orbit and adnexa oculi, its injuries are 5–10 % of the total number of all damages in peacetime and about 20 % in wartime [4,6,7].

Nearly 20 % of the entire eye pathology is injuries; they are the cause of unilateral blindness in 50 % of cases, bilateral – 20 %. Eye injuries are observed mainly in people of the most working age (84.6 % at 20–30 years old) and often lead to restriction or total loss of working ability, and the state suffers significant economic damage – in almost half of cases, victims are released from work for at least 3–7 days. Visual organ injuries are divided into mechanical (damages) and burns.

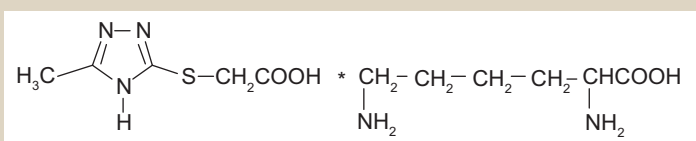
Injuries, in turn, are divided into contusions and wounds. Contusions are inflicted by blunt objects (fist, snowball, clod of earth, stone, etc.), and wounds – by sharp, prickly, or cutting objects (knife, scissors, needle, nail, etc.). Contusions predominantly cause damage to all parts of the visual organs, but they are conventionally divided into adnexa oculi contusions and eyeball contusions. Wounds are also divided into adnexa oculi wounds and eyeball wounds. Eyeball wounds, in turn, are divided into penetrating and nonpenetrating. Penetrating eyeball wounds can be without and with the intraocular foreign bodies [5].

Among all visual organ injuries, eye burns are one of the most serious clinical and social problems and are second in severity after penetrating wounds in the structure of visual organ injuries and are recorded in 20.0–42.2 % of cases. The main component of the adult population with this pathology (up to 70 %) is a person of working age, at the age of 19–45 years (63 %), mostly male (78 %). In connection with the crime situation that has been created, as well as the ATO in the South-East of the country, the number of visual organ injuries has sharply increased, among which contusion and burn injury came out on top

and are noted in 50–64 % of cases. Chemical eye burns are one of the most severe types of visual organ injuries, both in the nature of changes in the tissues and in the outcome. The pathological mechanism of burn disease and its consequences is multifactorial. According to the literature data, corneal epithelium membranes are destroyed by chemical burns; its architectonics, chemical property, all types of metabolism are disturbed; the systemic changes also occur in the body (kidney failure, liver dysfunction, dyspancreatizm). In addition, burn injury creates favorable conditions for the development of a secondary infection, which increases intoxication and aggravates the burn [3].

For many years, the studies have been conducted on the conservative treatment of hemorrhage in various parts of the eye, searching for the most effective and safe drugs, studying the methods and doses of their use, improving the regimen of resolution therapy [5].

In the early 90s of the last century, free-radical links of oxidative stress drew the attention of pharmacologists and clinicians as a target of drug treatment of eye contusional injuries. Hyperproduction of the reactive oxygen species and NO neurochemical reactions (transmitter autocolidosis) and IL-1b-induced iNO Shyperexpression leads to oxidative modification of receptor protein structures, ion channels, cell membranes of the visual analyzer, impaired photochemical reactions, suppression of nerve impulses generation and conduction, reduced vision, and blindness. As a rule, such disorders occur against the background of deprivation of the expression of the antioxidant system that control photochemical reactions in the retina. Thus, a decrease in the expression of Se-GPR mRNA and its activity was detected in patients with contusional lesions of the eye membranes. At this time, emoxipin, mexidol, thiotriazoline, cysteine, succinic acid salts, etc., became widely used as water-soluble antioxidants in ophthalmic practice. However, the effectiveness of antioxidants does not always



**Fig. 1.** The structural formula of Angiolin ((S)-2,6-diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate).

meet the requirements of ophthalmologists, because their mechanism of action does not affect the initial and primary stages of the molecular-biochemical cascade of damage to the eye membranes during contusion [1,2].

In relation to revolutionary discoveries in neurobiology, neurochemistry, and neurophysiology and the disclosure of the role of glutamate excitotoxicity, neuroapoptosis trigger mechanisms, molecular factors of endogenous neuroprotection, the question of including of neuroprotectors in the complex therapy of contusional injuries of the eye was recently discussed. The main direction of neuroprotection in case of eye injury is the reduction of excitotoxicity (magnesium ions and glycine), energy deficiency (succinic acid salts, thiotriazolone), ROS/NO-dependent mechanisms of neurodestruction (thiotriazolone, mexidol, ergotein, emoxipin, glutathione, cysteine). The drugs that inhibit neuroapoptosis (recombinant drugs of the anti-apoptotic protein bcl-2) are of some interest. In addition, the promising use of the following drugs is considered: modulators of endogenous neuroprotection, in particular regulators of the expression of the heat shock protein 70 kDa -HSP70 (selective modulators of estrogen receptors, intermediates of the glutathione system – selenase, glutaredoxin, glutathione, melatonin). In this regard, special attention is attracted by the new original drug – Angiolin [1,9].

The employees of the Department of Pharmaceutical Chemistry of Zaporizhzhia State Medical University (ZSMU) together with the specialists of the SPA “Farmatron” under the supervision of professor I. A. Mazur synthesized a new compound, called Angiolin.

Therefore, it is advisable to expand the range of domestic medicines, namely, eye drops with wound healing, reparative, anti-inflammatory, and local anesthetic actions, in order to improve the therapeutic effect and cost-effectiveness of treatment.

## The aim

The aim of the research is to study the anti-inflammatory, wound-healing, reparative activity of the Angiolin eye drops action during a chemical burn of the cornea rabbits modeling.

## Materials and methods

In the course of work in the Drug Standardization and Formulation Laboratory of the Department of Pharmaceutical Chemistry, ZSMU, Angiolin eye drops were made in the following concentrations: 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, 2.0 % and 2.5 % (used series: Angiolin, experimental series 9,

produced by the State Enterprise “Chemical Reagents Plant” of the Scientific and Technical Complex “Institute of Single Crystals” of the National Academy of Sciences of Ukraine) [8,9].

We have studied the pharmacological efficacy of the prepared Angiolin eye drops in concentrations: 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, 2.0 % and 2.5 %.

All studies were carried out on 40 eyes of 20 Chinchilla breed rabbits of both sexes weighing 2.1–3.5 kg. The chemical burn model was reproduced according to the Obenberger method using 10 % sodium hydroxide solution (application of 8 mm blotting paper), exposure time 20 seconds, after preliminary installation anesthesia with 0.5 % Alcaine solution. From the first day, rabbits have administrated 0,1 ml of eye drops 3 times a day for 14 days into the conjunctiva. 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, 2.0 % and 2.5 % Angiolin drops were used. The rabbits of the control group were administrated with the same volume of saline. There were 5 rabbits in each group. From the first day of the experiment, an ophthalmoscopic examination of animals was made. We have also determined the signs of corneal syndrome – (lacrimation, photophobia, pain during villus irritation, blepharospasm), as well as chemosis, areas of ischemia and superficial necrosis of the conjunctiva, dilation of blood vessels and limb edema in points, which are assigned depending on the severity of edema, hyperemia, erosion: 0 points – the sign is absent, 1 point – the sign is expressed slightly, 2 points – the sign is expressed moderately, 3 points – the sign is expressed strongly. Corneal defects were measured quantitatively (diameter using caliper).

The study results were processed using the statistical package of the licensed program Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., No. AXXR712D833214FAN5), as well as SPSS 16.0, and Microsoft Excel 2003. Separate statistical procedures and algorithms are implemented as specially written macros in the corresponding programs. For all types of analysis, the differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

## Results

In groups of animals treated with Angiolin, on the 2nd day of treatment, the cornea was available for inspection. The reduction of the epithelium defect in the form of a circle to 3.35 mm and 2.11 mm by the end of the 14th day was determined. It is worth noting that in groups of animals that received 1.0 %, 1.5 %, 2.0 % and 2.5 % Angiolin eye drops, epithelization proceeded faster, with its full completion on the 8–11 days.

**Table 1.** The clinical status of the rabbits' eyes on the 14th day after the burn injury and treatment with Angiolin eye drops (in points)

Animal groups	Photophobia	Blepharospasm	Hyperemia	Lacrimation	Corneal defect, mm
Intact (n = 5)	0	0	0	0	–
Burn (control) (n = 5)	3	3	3	3	6.73 ± 0.41
Angiolin, 0,5 % (n = 5)	1.20 ± 0.44	1	1.80 ± 0.44	1.80 ± 0.44	3.35 ± 0.54* (-50.2 %)
Angiolin, 1 % (n = 5)	1	1	1	1	2.41 ± 0.31* (-64.1 %)
Angiolin, 1.5 % (n = 5)	1	1	1	1	2.47 ± 0.27* (-63.3 %)
Angiolin, 2.0 % (n = 5)	1	1	1	1	2.45 ± 0.22* (-63.6 %)
Angiolin, 2.5 % (n = 5)	1	1	1	1	2.48 ± 0.27* (-63.1 %)

**0 points:** no sign, **1 point:** expressed slightly sign, **2 points:** moderately expressed sign, **3 points:** strongly expressed sign;\*:  $P < 0.05$  in relation to control.

Thus, it can be noted that eye drops containing Angiolin as an active ingredient exhibit a high anti-inflammatory, wound-healing, reparative activity in the treatment of eye burns.

In addition, based on experimental data (Table 1), it can be noted that Angiolin eye drops in concentrations: 1.0 %, 1.5 %, 2.0 %, 2.5 % show almost the same pharmacological activity, and the most effective were 1 % Angiolin eye drops, that gives us the opportunity to conduct further study. The mechanism of therapeutic action of Angiolin eye drops is associated with its chemical structure. Thus, the L-lysine residue is also metabolized into pipercolic acid, which enhances the affinity of the GABA-benzodiazepin receptor complex. This effect of lysine is especially important in conditions of glutamate "excitotoxicity", which occurs in hypoxia and leads to an increase in intracellular  $Ca^{2+}$  concentration, activation of NO synthase, intensive formation of NO and peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>), which is the immediate cause of cell death. By enhancing the affinity of GABA receptors, pipercolic acid reduces the hyperexcitability of glutamate receptors, the release of exciting amino acids (glutamate and aspartate) and, thereby, neutralizing manifestations of glutamate "excitotoxicity" [10].

Another important effect of L-lysine is its ability to replace arginine in nitric oxide synthesis reactions, which also leads to a decrease in the manifestations of nitrosative stress in the nervous tissue in hypoxia [11].

## Discussion

The significant antioxidant activity of Angiolin is due to the presence of a thiol group in its structure. Thereby the drug has pronounced reparative properties and the ability to receive electrons from various reactive oxygen species. In this case, sulfur in the thiol groups passes from bi- to the tetravalent state. Proceeding from the above, Angiolin can be attributed to the group of antioxidants, which are the "traps" of free radicals. This group of medicines converts oxygen free radicals to an inactive state, promotes reactivation of antioxidant enzymes, and contributes to more efficient use of the non-enzymatic tocopherol antioxidant [12].

During course administration, Angiolin is known to increase the concentration of HSP<sub>70</sub> protein in damaged nerve tissue [13], which may be a key mechanism of its protective action in corneal burns. HSP proteins are induced in the cells of all living organisms in response to the action of numerous stressors, such as heat shock, hypoxia, ischemia, metabolic disorders, viral infection and pharmacological agents' influence [10]. The genes of these proteins are activated not only under stress, but also during the main processes of cellular activity, proliferation, differentiation, and apoptosis. HSPs take part in all vital processes of tissues and organs [14, 15].

Thus, the creation of eye drops based on the original drug Angiolin, which exhibits antioxidant, neuroprotective, mitoprotective properties and is able to regulate HSP<sub>70</sub> expression, can optimize approaches to the complex treatment of corneal chemical burn.

## Conclusions

1. Angiolin eye drops exhibit high anti-inflammatory, wound healing, reparative activity in the treatment of eye burns.

2. As a result of the study, it was found that 1 % of Angiolin eye drops turned out to be the most effective.

3. The obtained results are an experimental rationale for further study of 1 % Angiolin eye drops.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 06.05.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.06.2019

Прийнято до друку / Accepted: 27.06.2019

## Information about authors:

Bielenichev I. F., PhD, Dr.hab., Professor, Head of the Department of Pharmacology and Medical Formulation, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kucherenko L. I., PhD, Dr.hab., Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Vice-President of SPA "Farmatron", Zaporizhzhia, Ukraine.

Mazur I. A., PhD, Dr.hab., Professor, Zaporizhzhia State Medical University, President of SPA "Farmatron", Zaporizhzhia, Ukraine.

Akopian R. R., Postgraduate Student of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Khromylova O. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Pavliuk I. V., PhD, Senior Judicial Expert in the Sector for the Study of Narcotic Drugs, Psychotropic Substances, their Analogues and Precursors in the Materials and Products Research Division, Zaporizhzhia Research Experimental Forensic Center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine.

## Відомості про авторів:

Беленічев І. Ф., д-р біол. наук, професор, зав. каф. фармакології та медичної рецептури, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Кучеренко Л. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, віце-президент НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя, Україна.

Мазур І. А., д-р фарм. наук, професор, Запорізький державний медичний університет, президент НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя, Україна.

Акопян Р. Р., очний аспірант каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Хромілюва О. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Павлюк І. В., канд. біол. наук, старший судовий експерт сектора дослідження наркотичних засобів, психотропних речовин, їх аналогів і прекурсорів відділу досліджень матеріалів і виробів, Запорізький науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України.

## Сведения об авторах:

Беленичев И.Ф., д-р биол. наук, профессор, зав. каф. фармакологии и медицинской рецептуры, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кучеренко Л. И., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, вице-президент НПО «Фарматрон», г. Запорожье, Украина.

Мазур И. А., д-р фарм. наук, профессор, Запорожский государственный медицинский университет, президент НПО «Фарматрон», г. Запорожье, Украина.

Акопян Р. Р., очный аспирант каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.



Хромыева О. В., канд. фарм. наук, доцент  
каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный  
медицинский университет, Украина.

Павлюк И. В., канд. биол. наук, старший судебный  
эксперт сектора исследования наркотических средств,  
психотропных веществ, их аналогов и прекурсоров отдела  
исследований материалов и изделий Запорожского научно-  
исследовательского экспертно-криминалистического центра  
МВД Украины.

## References

- [1] Belenichev, I. F., Mazur, I. A., Kucherenko, L. I., Nagornaya, E. A., Gorbacheva, S. V., & Bidnenko, A. S. (2016). The molecular and ultrastructural aspects of the formation of mitochondrial dysfunction in the modeling of chronic cerebral ischemia: The mitoprotective effects of Angiolin. *Neurochemical Journal*, 10(2), 131-136. doi: 10.1134/s1819712416010025
- [2] Kucherenko, L. I., Hromyleva, O. V., Mazur, I. A., & Shishkina, S. V. (2017). Theoretical study about L-arginine complexes formation with thiotriazolin. *Zaporozhye medical journal*, 19(1), 108-112. doi: 10.14739/2310-1210.2017.1.91736
- [3] Chekman, I. S., Kazakova, O. O., Mazur, I. A., Nahorna, O. O., Bielenichev, I. F., & Horchakova, N. O. et al. (2017). Novyi oryhinalnyi metabolitotropnyi endotelioptektor "Angiolin": kvantovo-khimichni parametry ta osoblyvosti farmakolohichnoi dii [New original metabolitotropic endothelioprotector "Angiolin": quantum-chemical parameters and peculiarities of pharmacological action]. *Reports Of The National Academy Of Sciences Of Ukraine*, 8, 86-93. doi: 10.15407/dopovidi2017.08.086 [in Ukrainian]
- [4] Kolesnik, Yu. M., Chekman, I. S., Mazur, I. A., Bielenichev, I. F., Horchakova, N. A. & Nahorna, O. O. (2014). Mekhanizmy rozvytku endotelialnoi dysfunktsii ta poshuk endotelioptektoriv [Mechanisms of development of endothelial dysfunction and search for endothelioprotectors]. *Journal of the National academy of medical sciences of Ukraine*, 20(3), 289-299. [in Ukrainian].
- [5] Gladunova, E. P., Shirolapova, A. Ju., & Kurkin, V. A. (2015). Sovershenstvovanie obespechenija naselenija kontroliruemymi gruppami lekarstvennykh preparatov [Improving the provision of the population with controlled drug groups]. *Pharmacy*, 2, 32-36. [in Russian].
- [6] Mashkovskij, M. D. (2012). *Lekarstvennye sredstva [Drugs]*. (16th ed.) Moscow. [in Russian].
- [7] Chekman, I. S., Nebesna, T. Yu., Kazakova, O. O., & Simonov, P. V. (2010). Farmakofory: stvorennia likarskykh zasobiv [Pharmacophores: the creation of medicines]. *Journal of the Academy of Medical Sciences of Ukraine*, 16(3), 424-437. [in Ukrainian].
- [8] Kucherenko, L. I., Belenichev, I. F. & Bidnenko, A. S., (2015). Angiolin – novyj predstavitel metabolitotropnykh preparatov s vyrazhennym vlianiem na jendotelij sosudov golovnogo mozga i serdca [Angiolin – is an ewrepresentative of metabolitotropic drugs with pronounced effect on the vascular endothelium of the brain and heart]. *MHO Inter-Medical*, 4(10), 11-14. [in Russian].
- [9] Bidnenko, O. S. (2014). Shchodo tekhnolohii vyrobnytstva substansii "Lizynii" [As for the technology of production of the substance "Lysine"]. *Modern aspects of medicine and pharmacy. Proceedings of the Scientific and Practical Conference*, (p. 163). Zaporizhzhia. [in Ukrainian].
- [10] Khurana, A. K., Khurana, Aruj K. & Khurana, B. (Eds.). (2015). *Review of Ophthalmology*. (6th ed.). India: Jaypee Brothers Medical Publishers (Verlag).
- [11] Khurana, A. K., Khurana, Aruj K. & Khurana, B. (Eds.). (2015). *Comprehensive Ophthalmology*. (6th ed.). New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (Verlag).
- [12] Purdy, E. P. (Ed.). (2012). *Basic and Clinical Science Course. Section 1: Update on General Medicine*. Canada: American Academy of Ophthalmology.
- [13] Chalam, K. V. (Ed.). (2012). *Basic and Clinical Science Course. Section 2: Fundamentals and Principles of Ophthalmology*. Canada: American Academy of Ophthalmology.
- [14] Raab, E. L. (Ed.). (2012). *Basic and Clinical Science Course. Section 6: Pediatric Ophthalmology and Strabismus*. Canada: American Academy of Ophthalmology.
- [15] Holds, J. B. (Ed.). (2012). *Basic and Clinical Science Course. Section 7: Orbit, Eyelids, and Lacrimal System*. Canada: American Academy of Ophthalmology.

## Стан ворсин слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів за умов дії епіхлоргідрину та медикаментозних препаратів

А. С. Смірнов<sup>A,B,C,D</sup>, М. А. Мірзебасов<sup>A,B,C,D</sup>, С. М. Смірнов<sup>\*A,E,F</sup>

Державний заклад «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

### Ключові слова:

дванадцятипала кишка, ворсини, слизова оболонка, мітотична активність, епіхлоргідрин, щури.

### Запорізький медичний журнал.

– 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 820–827

### DOI:

10.14739/2310-1210.2019.6.186643

### \*E-mail:

snsnm60@ukr.net

Сучасне довкілля забруднене ксенобіотиками, що здатні викликати розвиток патологічних процесів. Один із ксенобіотиків – епіхлоргідрин (ЕПХГ). Вплив цього ксенобіотика викликає зміни стану різних органів, зокрема органів травної системи. Наслідки дії ЕПХГ на дванадцятипалу кишку (ДК) не досліджені.

**Мета роботи** – дослідити характер змін стану ворсин слизової оболонки (СО) ДК і мітотичної активності клітин епітелію СО ДК за умов тривалої дії ЕПХГ, а також оцінити можливість, ефективність використання екстракту ехінацеї пурпурової і тіотріазоліну для корекції цих змін.

**Матеріали та методи.** Експериментальне дослідження виконали на самцях білих щурів. Сформували 6 експериментальних груп. Після завершення 2-місячного введення ЕПХГ, екстракту ехінацеї пурпурової (ЕП) і тіотріазоліну на 1, 7, 15, 30, 60 добу з експерименту виводили по 6 щурів із кожної експериментальної групи. Висоту ворсин СО ДК і мітотичну активність клітин СО ДК оцінювали за допомогою лабораторного мікроскопа серії MC 100 фірми Micros (Австрія).

**Результати.** Після завершення тривалого введення ЕПХГ у морфофункціональній організації СО ДК щурів відбувалися зміни, що проявлялися у зменшенні висоти ворсин і мітотичної активності клітин епітелію СО ДК. З часом виразність змін зменшувалася. Введення екстракту ЕП і введення тіотріазоліну щурам, які не отримували ЕПХГ, супроводжується збільшенням висоти ворсин. У разі застосування тіотріазоліну цей ефект є тривалішим. Застосування екстракту ЕП, а також використання тіотріазоліну під час інгаляцій ЕПХГ зменшує виразність і тривалість зменшення висоти ворсин і мітотичної активності клітин епітелію СО ДК, що викликані цією хімічною речовиною.

**Висновки.** Тривалий вплив ЕПХГ супроводжується негативними змінами стану СО ДК. Тіотріазолін ефективніше, ніж екстракт ЕП корегує наслідки негативного впливу ЕПХГ.

### Ключевые слова:

дванадцятиперстная кишка, ворсини, слизистая оболочка, эпихлоргидрин, крысы.

### Запорожский медицинский журнал.

– 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 820–827

## Состояние ворсин слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки крыс в условиях действия эпихлоргидрина и медикаментозных препаратов

А. С. Смирнов, М. А. Мирзебасов, С. Н. Смирнов

Современная окружающая среда загрязнена ксенобиотиками, которые способны вызвать развитие патологических процессов. Одним из ксенобиотиков является эпихлоргидрин (ЭПХГ). Влияние этого ксенобиотика вызывает изменения состояния различных органов, в том числе органов пищеварительной системы. Последствия действия ЭПХГ на двенадцатиперстную кишку (ДК) не исследованы.

**Цель работы** – изучить характер изменений состояния ворсин слизистой оболочки (СО) ДК и митотической активности клеток эпителия СО ДК в условиях длительного действия ЭПХГ, а также оценить возможность и эффективность использования экстракта эхинацеи пурпурной (ЭП) и тиотриазолина для коррекции этих изменений.

**Материалы и методы.** Экспериментальное исследование выполнено на самцах белых крыс. Сформировали 6 экспериментальных групп. После завершения 2-месячного введения ЭПХГ, экстракта ЭП и тиотриазолина на 1, 7, 15, 30 и 60 сутки из эксперимента выводили по 6 крыс из каждой экспериментальной группы. Высоту ворсин СО ДК и митотическую активность клеток эпителия СО ДК оценивали с помощью лабораторного микроскопа серии MC 100 фирмы Micros (Австрия).

**Результаты.** После окончания длительного введения ЭПХГ в морфофункциональной организации СО ДК крыс происходили изменения, которые проявлялись в уменьшении высоты ворсин и митотической активности клеток эпителия СО ДК. Со временем степень изменений уменьшалась. Введение экстракта ЭП и введение тиотриазолина крысам, которые не получали ЭПХГ, сопровождалось увеличением высоты ворсин. В случае применения тиотриазолина этот эффект является более длительным. Применение экстракта ЭП, а также использование тиотриазолина во время ингаляций ЭПХГ уменьшало выраженность и длительность уменьшения высоты ворсин и митотической активности клеток эпителия СО ДК, вызванной этим химическим веществом.

**Выводы.** Длительное воздействие ЭПХГ сопровождается негативными изменениями состояния СО ДК. Тиотриазолин более эффективно, чем экстракт ЭП, корректирует последствия негативного влияния ЭПХГ.

## The state of the duodenal villi in rats under epichlorohydrin and drugs influence

A. S. Smirnov, M. A. Mirzebasov, S. M. Smirnov

**Introduction.** The modern environment is polluted by xenobiotics which can cause the development of pathological processes. One of xenobiotics is epichlorohydrin (ECH). The impact of this xenobiotic causes changes in the state of various organs, including the organs of the digestive system. However, the effects of ECH on the duodenum have not been investigated.

**The aim of the study** is to investigate the changes in the state of the duodenal villi in rats and changes in mitotic activity of mucous epithelial cells under ECH influence as well as to evaluate a possibility and effectiveness of Echinacea purpurea (EP) extract and thiotriazoline use for these changes correction.

**Material and methods.** An experimental study was performed on male white rats. Six experimental groups were created. Six rats from each experimental group were removed from the experiment on the 1st, 7th, 15th, 30th, 60th days after the end of the two-month administration of ECH, EP extract and thiotriazoline. The height of the villi of the duodenal mucosa and changes in mitotic activity of mucous epithelial cells were estimated using a microscope of the MS 100 series of Micros (Austria).

**Results.** Morphofunctional organization of duodenal mucosa in rats was changed after the long-term introduction of ECH. The height of villi and mitotic activity of mucous epithelial cells were reduced. Over time, the expressiveness of the changes diminished. Introduction of EP extract and thiotriazoline administration to rats which did not receive ECH was accompanied by an increase in the height of villi. In the case of thiotriazoline administration, this effect was longer. The use of EP extract as well as the use of thiotriazoline during ECH inhalations reduced the severity and duration of the decrease in the height of villi and mitotic activity of mucous epithelial cells caused by this chemical. The negative effects of ECH were corrected more effectively by thiotriazoline than by EP extract.

**Conclusions.** Prolonged action of ECH is accompanied by negative changes in the state of duodenal mucosa. The negative effects of ECH were corrected more effectively by thiotriazoline than by EP extract.

**Key words:**

duodenum, villi, mucosa, epichlorohydrin, rats.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 820–827

Сучасне довкілля забруднене ксенобіотиками. Більшість ксенобіотиків при потрапленні в організм впливають на стан життєво важливих процесів і здатні викликати розвиток патологічних процесів [4, 12, 19, 22]. Ці фактори зумовлюють розвиток захворювань, негативно впливаючи на органи та системи органів організму людини [3, 18]. Механізми дії ксенобіотиків різноманітні та залежать від їхньої природи [2, 10, 13, 23]. Одним із ксенобіотиків, з яким часто контактує людина, – епіхлоргідрин (ЕПХГ) [6, 17].

ЕПХГ і матеріали, що виготовляються з його використанням, широко застосовують у промисловості, сільському господарстві, побуті. ЕПХГ використовують під час виготовлення сорбентів, котрі застосовують для видалення іонів кольорових, важких і благородних металів з промивних і стічних вод, із технологічних розчинів [35], при виготовленні гумових сумішей [38].

Негативний вплив ЕПХГ на організм пов'язаний із його токсичними [29], канцерогенними властивостями [11], зі здатністю викликати розвиток оксидантного стресу [14], порушення енергетичного обміну [28].

Результати багатьох експериментальних і клінічних наукових досліджень свідчать, що, потрапляючи в організм, ЕПХГ негативно впливає на стан різних органів. Зокрема, за умов хронічної дії ЕПХГ певні зміни відбуваються в кістковій тканині, порушуються процеси росту нижньої щелепи [30]. Відомо, що тривалі інгаляції ЕПХГ уповільнюють темпи росту кульшової, великогомілкової кісток і третього поперекового хребця білих щурів [40].

Хронічна дія ЕПХГ супроводжується розвитком порушень у репродуктивних органах. У статевозрілих щурів унаслідок інгаляційного впливу ЕПХГ протягом 60 днів у концентрації 10 мг/м<sup>3</sup> виникали зміни ендокринного статусу, порушувався сперматогенез, зокрема утворення сперматид. Відбувалися зміни у структурі передміхурової залози та сім'яних пухирців, що характеризувалися посиленням злушенням клітин епітелію, наявністю метаплазії епітелію [27]. Досліджуючи дію ЕПХГ на щурів, виявили гістопатологічні порушення в епідидимісі та наявність аномалій сперматозоїдів. Крім того, зменшувалася кількість сперматозоїдів, змінювалася їхня рухливість [14]. ЕПХГ негативно впливає на стан епідидимісу шляхом зміни характеру процесів клітинної загибелі. Після перорального одноразового введення щурам ЕПХГ у дозі 50 мг/кг маси тіла виявляли зміни

кількості клітин з ознаками апоптозу [1]. Під впливом ЕПХГ змінюється стан імунної системи. У результаті аналізу динаміки стану імунореактивності працівників хімічних виробництв ЕПХГ виявили зміни концентрації сироваткових імуноглобулінів IgA, IgM, IgG. Характер цих змін залежить від тривалості впливу ЕПХГ [45]. Вплив ЕПХГ викликає зміни стану дихальної системи, репродуктивної системи, імунної системи [5, 16, 34]. Відомо, що ЕПХГ впливає на органи травної системи, зокрема на шлунок [15].

Наслідки дії ЕПХГ на дванадцятипалу кишку (ДК) не досліджені. Також не розроблені методи корекції порушень стану ДК, що викликає ЕПХГ.

## Мета роботи

Дослідити характер змін стану ворсин слизової оболонки (СО) ДК і мітотичної активності клітин епітелію СО ДК за умов тривалої дії ЕПХГ, а також оцінити можливість та ефективність використання екстракту ехінацеї пурпурової (ЕП) і тіотриазоліну для корекції цих змін.

## Матеріали і методи дослідження

Експериментальне дослідження виконали на самцях білих щурів репродуктивного віку з масою тіла 200–250 г (віварій ДЗ «Луганський державний медичний університет»). Протягом експерименту щурів утримували у стандартних клітках. У кожній клітці перебували не більше ніж 6 тварин. Температуру підтримували в межах 20–25 °С, відносна вологість повітря – 50–65 %. Забезпечували режим повітрообміну витяжка-приплив 8/10. Щурів утримували у вільному доступі до води на стандартному раціоні у природному світловому режимі день – ніч. Експерименти виконали, дотримуючись етичних аспектів поводження з тваринами. Умови утримання тварин, здійснення експериментів та евантації відповідати принципам Гельсінської декларації.

Сформували 6 експериментальних груп по 30 щурів у кожній. У 1 групу ввійшли щури, які були контролем. Щурам 2 групи протягом 2 місяців 5 днів на тиждень протягом 5 годин на день проводили інгаляції ЕПХГ у дозі 10 гранично допустимих концентрацій. Гранично допустима концентрація ЕПХГ у повітрі становить 1 мг/м<sup>3</sup>. LC<sub>50</sub> (напівлетальна концентрація) ЕПХГ дорівнює

360–420 мг/м<sup>3</sup> [28]. Вибір дози зумовлений тим, що саме її використовують часто інші автори, і вона викликає порушення стану органів експериментальних тварин [40,47].

Інгаляційне введення здійснювали у період з 9.00 до 14.00 натще. Установка для проведення інгаляцій мала затравну камеру, паронасичувальну камеру, а також нагрівальний елемент, компресор, датчик для регулювання подачі речовини, повітроводи, терморегулятор, реометри, поглинальні елементи та допоміжне обладнання.

Щури 3 експериментальної групи протягом 2 місяців по 5 днів на тиждень о 9.00 через шлунковий зонд у вигляді водного розчину отримували екстракт ЕП із розрахунку 200 мг/кг маси тіла. Дозу екстракту ЕП, яку використовували в експерименті, обрали за результатами попередніх досліджень [43] та за результатами досліджень інших авторів [8,20,21,24,25]. Екстракт ЕП обрали для фармакокорекції тому, що результати наукових досліджень вказують на наявність ефективності застосування препаратів ЕП для захисту від негативної дії ксенобіотиків [9,31].

Щурам 4 групи протягом 2 місяців 5 днів на тиждень о 9.00 внутрішньочеревно вводили 2,5 % розчин тіотріазоліну в дозі 117,4 мг/кг маси тіла. Ця доза – оптимальна та встановлена раніше [42]. Таку дозу тіотріазоліну широко використовують в експериментальній роботі інші дослідники [36,40,48]. Тіотріазолін обрали для фармакокорекції у зв'язку з тим, що ефективність його використання експериментально доведена [26,41]. Ефективність застосування тіотріазоліну як коректора порушень, що викликають ксенобіотики, зумовлена тим, що він є антиоксидантом [32,39], має імуномодулювальний, мембраностабілізуювальний, протиішемічний ефекти [46,49].

Щури 5 групи отримували ЕПХГ та екстракт ЕП. У 6 групу ввійшли щури, яким вводили ЕПХГ і тіотріазолін. Після завершення введення досліджуваних хімічних речовин на 1, 7, 15, 30, 60 добу з експерименту виводили по 6 щурів із кожної експериментальної групи. Виведення щурів з експерименту здійснювали методом декапітації після введення тіопенталу натрію.

Мітотичну активність у СО ДК оцінювали шляхом підрахунку кількості клітин, котрі діляться мітозом, серед не менше ніж 5000 клітин СО ДК. Мітотичну активність визначали щодо кількості клітин, що діляться мітозом, до загальної кількості підрахованих клітин і виражали у проміле. Для оцінювання мітотичної активності застосовували метод блокуваних мітозів [33,44]. Ефекту блоку мітозів досягали введенням розчину вінкристину в дозі 0,2 мг/кг маси тіла щурів внутрішньочеревно за 4 години до виведення щурів з експерименту. Дозу вінкристину визначали в серії попередніх експериментів. Критерієм ефективності дозу вінкристину була відсутність анафаз і телофаз на гістологічних препаратах.

Фрагменти ДК фіксували в розчині формаліну, обробляли за стандартною гістологічною методикою. Парафінові зрізи фарбували гематоксилін-еозином і за методикою ван Гісона. Висоту ворсин СО ДК оцінювали за допомогою лабораторного мікроскопа серії МС 100 фірми Micros (Австрія) та програмного забезпечення Microvisible (версія 1.11.10). Вірогідність відмінностей результатів визначали за допомогою критерію U Манна–Уїтні. Відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

## Результати

Порівняно з висотою ворсин СО щурів групи контролю цей показник у щурів, на яких діяв ЕПХГ, зменшувався на 1 добу дослідження на 23,6 % ( $p < 0,01$ ), на 7 добу – на 21,4 % ( $p < 0,01$ ), на 15 добу – на 16,1 % ( $p < 0,01$ ), на 30 добу – на 9,1 % ( $p < 0,01$ ), на 60 добу – на 5,0 % ( $p < 0,05$ ). Зіставлення результатів оцінювання висоти ворсин СО щурів, на яких впливав ЕПХГ, на 1, 7, 15, 30 та 60 добу дослідження дало можливість встановити, що за період з 1 до 60 доби після припинення введення ЕПХГ висота ворсин СО ДК щурів, які отримували цей препарат, збільшувалася на 25,1 % ( $p < 0,01$ ) (табл. 1).

Після завершення введення екстракту ЕП у щурів, які не отримували ЕПХГ, висота ворсин порівняно з таким показником у щурів групи контролю збільшувалася на 1 добу дослідження на 4,9 % ( $p < 0,05$ ). Порівняння висоти ворсин СО на 1, 7, 15, 30 та 60 добу дослідження у групі щурів, які отримували екстракт ЕП, показало: висота ворсин у період з 1 до 60 доби зменшувалася на 4,0 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Порівняння висоти ворсин СО ДК щурів, яким вводили тіотріазолін, але не вводили ЕПХГ, та відповідного показника в щурів групи контролю показало: в перших він виявився більшим на 1 добу на 7,7 % ( $p < 0,05$ ), на 7 добу – на 5,9 % ( $p < 0,05$ ), на 15 добу – на 5,0 % ( $p < 0,05$ ). Зіставлення висоти ворсин СО щурів, на яких діяв тіотріазолін, на 1, 7, 15, 30 та 60 добу після припинення ін'єкцій тіотріазоліну у групі щурів, які його отримували, дало змогу встановити, що за період з 1 до 60 доби спостерігали зменшення висоти ворсин на 5,8 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

За умов тривалого введення ЕПХГ та екстракту ЕП висота ворсин СО ДК щурів виявилася меншою за таку в щурів групи контролю на 1 добу на 12,2 % ( $p < 0,01$ ), на 7 добу – на 9,0 % ( $p < 0,01$ ), на 15 добу – на 5,7 % ( $p < 0,05$ ). Порівняно з висотою ворсин щурів, на яких діяв ЕПХГ, у щурів, які зазнавали впливу ЕПХГ та екстракту ЕП, цей показник був більшим на 1, 7, 15, 30 та 60 добу відповідно на 14,9 % ( $p < 0,01$ ), 15,9 % ( $p < 0,01$ ), 12,4 % ( $p < 0,01$ ), 7,2 % ( $p < 0,05$ ) та на 5,4 % ( $p < 0,05$ ). Порівняння висоти ворсин СО на 1, 7, 15, 30 та 60 добу в експериментальній групі щурів, на яких діяли ЕПХГ та екстракт ЕП, показало: висота ворсин СО ДК збільшувалася з 1 до 60 доби після припинення введення цих речовин на 14,7 % ( $p < 0,01$ ) (табл. 1).

Морфологічний стан СО ДК після завершення тривалої дії ЕПХГ і тіотріазоліну характеризувався тим, що висота ворсин щурів, які отримували ці речовини, виявилася меншою, ніж у щурів групи контролю на 1 та 7 добу дослідження на 7,8 % ( $p < 0,01$ ) і 6,0 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. У щурів, на яких впливали ЕПХГ і тіотріазолін, висота ворсин СО ДК була більшою, ніж відповідний показник у щурів, які зазнали впливу ЕПХГ, на 1 добу дослідження на 20,7 % ( $p < 0,01$ ), на 7 добу – на 19,7 % ( $p < 0,01$ ), на 15 добу – на 15,5 % ( $p < 0,01$ ), на 30 добу – на 8,0 % ( $p < 0,01$ ). Зіставлення висоти ворсин СО на 1, 7, 15, 30 та 60 добу в експериментальній групі щурів, на яких впливали ці речовини, показало: висота ворсин з 1 до 60 доби дослідження збільшувалася на 7,6 % ( $p < 0,01$ ) (табл. 1).

Порівняння значень висоти ворсин СО ДК у щурів, які отримували ЕПХГ і тіотріазолін, з такою в щурів, на

**Таблиця 1.** Висота ворсин слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів (М ± СКВ, мкм)

Експериментальна група	Кількість щурів у групі	Доба спостереження				
		1	7	15	30	60
1 Контроль	30	445,89 ± 16,71	449,42 ± 15,85	449,25 ± 16,36	444,40 ± 14,14	448,55 ± 13,22
2 ЕПХГ	30	340,55 ± 15,07*	353,03 ± 13,16*	377,07 ± 16,51*	403,77 ± 12,34*	426,04 ± 12,33**
3 Екстракт ЕП	30	467,82 ± 17,85*	464,64 ± 17,10	459,03 ± 16,09	449,07 ± 14,46	449,21 ± 12,85*
4 Тіотріазолін	30	480,37 ± 19,17*	475,79 ± 18,29*	471,93 ± 16,40*	458,92 ± 18,44	452,30 ± 16,53*
5 ЕПХГ та екстракт ЕП	30	391,33 ± 14,68*#	409,18 ± 16,60*#	423,69 ± 18,67*#	432,98 ± 16,57#	449,02 ± 13,27**
6 ЕПХГ та тіотріазолін	30	411,08 ± 14,52*#	422,65 ± 14,04*	435,65 ± 17,10	436,06 ± 12,28	442,19* ± 13,54

\*:  $p < 0,05$  – порівняння з показником щурів групи контролю (1 група); #:  $p < 0,05$  – порівняння з показником щурів, на яких діяв ЕПХГ (2 група); \*\*:  $p < 0,05$  – порівняння з показниками щурів однієї групи в різні строки дослідження; \*:  $p < 0,05$  – порівняння між показником щурів, на яких діяли ЕПХГ та екстракт ЕП (5 група), та показником щурів, на яких діяли ЕПХГ тіотріазолін (6 група).

**Таблиця 2.** Мітотична активність клітин епітелію СО ДК, М ± СКВ (%)

Експериментальна група	Кількість щурів у групі	Доба спостереження				
		1	7	15	30	60
1 Контроль	30	22,38 ± 1,09	22,13 ± 1,15	22,36 ± 1,00	22,12 ± 1,28	22,05 ± 1,05
2 ЕПХГ	30	20,36 ± 1,02*	20,33 ± 1,39*	21,16 ± 1,20*	21,94 ± 1,48	21,92 ± 0,92*
3 Екстракт ЕП	30	22,80 ± 0,91	22,58 ± 1,09	22,49 ± 1,17	22,29 ± 1,12	22,11 ± 1,14
4 Тіотріазолін	30	22,86 ± 1,02	22,66 ± 1,14	22,80 ± 1,02	22,37 ± 0,95	22,07 ± 1,04
5 ЕПХГ та екстракт ЕП	30	20,96 ± 1,07*	20,66 ± 0,97*	21,61 ± 1,11	21,69 ± 1,05	22,00 ± 0,98*
6 ЕПХГ і тіотріазолін	30	20,97 ± 0,96*	20,76 ± 1,19*	21,69 ± 1,01	21,55 ± 1,05	22,03 ± 1,08

\*:  $p < 0,05$  – порівняння з показником щурів групи контролю (1 група); #:  $p < 0,05$  – порівняння з показником щурів, на яких діяв ЕПХГ (2 група); \*\*:  $p < 0,05$  – порівняння з показниками щурів однієї групи в різні строки дослідження.

яких діяли ЕПХГ та екстракт ЕП, показало, що в перших висота ворсин була більшою на 1 добу спостереження на 5,0 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Після завершення тривалої дії ЕПХГ мітотична активність клітин епітелію СО ДК щурів, які отримували ЕПХГ, зменшувалася порівняно з мітотичною активністю клітин епітелію СО ДК щурів групи контролю на 1, 7 та 15 добу дослідження на 9,0 % ( $p < 0,05$ ), 8,1 % ( $p < 0,05$ ), 5,4 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. З 1 до 60 доби після припинення введення ЕПХГ мітотична активність клітин епітелію СО ДК щурів, на яких діяла ця хімічна речовина, збільшувалася на 7,7 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Зміни мітотичної активності клітин епітелію СО ДК щурів після завершення тривалої дії екстракту ЕП, а також після завершення тривалої дії тіотріазоліну порівняно з такою в щурів групи контролю не були статистично вірогідними. Порівняння мітотичної активності клітин епітелію СО ДК щурів, на яких впливав екстракт ЕП, на 1, 7, 15, 30 та 60 добу спостереження не показало статистично вірогідні відмінності (табл. 2).

За умов тривалої дії ЕПХГ та екстракту ЕП мітотична активність клітин епітелію СО ДК щурів, які отримували ці хімічні речовини, виявилася меншою за такий показник щурів групи контролю на 1 та 7 добу спостереження на 6,3 % ( $p < 0,05$ ) та 6,7 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Порівняння мітотичної активності клітин епітелію СО ДК щурів, на яких діяли ЕПХГ та екстракт ЕП, і відповідного показника у щурів, яким вводили ЕПХГ, не показало статистично вірогідні відмінності. З 1 до 7 доби дослідження мітотична активність клітин епітелію СО ДК щурів, на яких впливали ЕПХГ та екстракт ЕП, змінювалася статистично невірогідно, однак за період з 7 до 60 добу вона збільшувалася на 6,5 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Зміни морфофункціонального стану ДК щурів після завершення тривалої дії ЕПХГ і тіотріазоліну проявляли-

ся у зменшенні мітотичної активності клітин епітелію СО ДК порівняно з мітотичною активністю клітин епітелію СО ДК щурів групи контролю на 1 добу на 6,3 % ( $p < 0,05$ ) та 7 добу на 6,2 % ( $p < 0,05$ ). Порівняння мітотичної активності клітин епітелію СО ДК щурів, на яких впливали ЕПХГ і тіотріазолін, і відповідного показника в щурів, які зазнали дії ЕПХГ та екстракту ЕП, не показало статистично вірогідних відмінностей. З 1 до 60 доби після припинення введення ЕПХГ і тіотріазоліну мітотична активність клітин епітелію СО ДК щурів, які отримували ці хімічні речовини, змінювалася статистично невірогідно (табл. 2).

## Обговорення

Результати свідчать про наявність в ЕПХГ здатності здійснювати негативний вплив на стан органів, що збігається з результатами попередніх досліджень, які здійснені на інших об'єктах [3,18]. Негативний вплив ЕПХГ на органи травної системи не обмежується тільки впливом на стан шлунка [16]. Стан ДК, зокрема стан ворсин СО ДК, також уражається під дією цієї хімічної речовини, що проявляється у зменшенні висоти ворсин. Такі зміни можуть вказувати, що негативний вплив ЕПХГ, імовірно, зумовлений порушенням процесів клітинного оновлення та клітинного диференціювання у ворсинах СО ДК. Результати цього дослідження доводять, що тривала дія ЕПХГ викликає зменшення мітотичної активності клітин епітелію СО ДК, що підтверджує припущення щодо негативної дії цієї хімічної речовини на процеси клітинного оновлення.

Аналіз наслідків застосування екстракту ЕП і тіотріазоліну під час введення ЕПХГ показав наявність позитивного впливу цих речовин на стан ДК, зокрема на висоту ворсин СО ДК. Також доведена наявність позитивної дії екстракту ЕП і тіотріазоліну на мітотичну

активність клітин епітелію СО ДК, тривалість зменшення якої скорочується з 15 діб у щурів, які отримували ЕПХГ, до 7 діб у щурів, яким на тлі інгаляцій ЕПХГ вводили екстракт ЕП або тіотріазолін. Тобто, одним із механізмів позитивного впливу екстракту ЕП і тіотріазоліну на стан СО ДК є стимуляція процесів клітинного оновлення.

Наявні наукові дані свідчать, що механізм протекторної дії екстракту ЕП може бути пов'язаний із його антиоксидантною та адаптогенною дією [7,20]. Позитивний ефект тіотріазоліну на тлі впливу ЕПХГ, імовірно, зумовлений антиоксидантними та мембраностабілізуючими властивостями препарату [32,39,46,49], а також його здатністю впливати на стан хроматину [15].

Механізми дії тіотріазоліну різноманітні та полягають у зменшенні концентрації вільних радикалів, стимуляції експресії антиоксидантних ферментів, оптимізації циклу Кребса та ініціюванні Red/Oxi-залежної експресії факторів транскрипції в умовах ішемії, а також в активації компенсаторного малат-аспартатного шунта продукції енергії [37].

Отримані у цьому дослідженні результати не дають можливості остаточно визначити, які саме механізми дії екстракту ЕП і тіотріазоліну на стан СО ДК домінують. Це питання надалі потребує вивчення. Але результати дослідження свідчать про можливість використання екстракту ЕП і тіотріазоліну для корекції змін стану ДК, які індукує ЕПХГ.

## Висновки

1. Тривала дія ЕПХГ призводить до зменшення висоти ворсин СО ДК і до зменшення мітотичної активності клітин епітелію СО ДК. Зменшення висоти ворсин спостерігають протягом 60 діб після завершення введення ЕПХГ. Виразність зменшення висоти ворсин СО ДК у період з 1 до 60 доби після припинення введення ЕПХГ зменшується.

2. Введення екстракту ЕП щурам, які не отримували ЕПХГ, супроводжується збільшенням висоти ворсин СО ДК на 1 добу дослідження. З 1 до 60 доби після завершення введення екстракту ЕП висота ворсин СО ДК зменшується.

3. Введення тіотріазоліну щурам, на яких не діяв ЕПХГ, призводить до збільшення висоти ворсин СО ДК, яке спостерігають протягом 15 діб після завершення введення препарату. За період з 1 до 60 доби спостереження висота ворсин СО ДК щурів, на яких впливав тіотріазолін, зменшується.

4. Застосування екстракту ЕП, а також використання тіотріазоліну під час інгаляцій ЕПХГ зменшує виразність і тривалість зменшення висоти ворсин, а також тривалість зменшення мітотичної активності клітин епітелію СО ДК, що викликані цією хімічною речовиною. Тіотріазолін ефективніше, ніж екстракт ЕП корегує наслідки негативного впливу ЕПХГ.

**Перспективи подальших досліджень.** Наступні дослідження наслідків дії ЕПХГ на стан органів травної системи та, зокрема на стан ДК, дадуть змогу розширити експериментальну базу для глибшого розуміння механізмів розвитку порушень стану цих органів за умов дії небезпечних хімічних речовин. Продовження досліджень в цьому напрямі можуть мати практичне значення для

розроблення ефективних методів корекції патологічних станів, які викликає ЕПХГ.

## Фінансування

Робота виконана відповідно до плану наукових досліджень ДЗ «Луганський державний медичний університет» як частина ініціативної науково-дослідної роботи «Структурно-функціональний стан тканин в умовах дії екзогенних і ендогенних факторів і корекція змін, що виникають в умовах дії цих факторів» (номер держреєстрації 0112U002870) та як частина ініціативної науково-дослідної роботи «Стан тканин в умовах дії екзогенних і ендогенних факторів і шляхи корекції змін, які викликані цими факторами» (номер держреєстрації 0116U006014).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 12.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 23.05.2019

Прийнято до друку / Accepted: 01.08.2019

## Відомості про авторів:

Смірнов А. С., канд. мед. наук, доцент каф. медичної біології, гістології та ембріології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.  
ORCID ID: 0000-0002-1562-4591

Мірзєбасов М. А., асистент каф. медичної біології, гістології та ембріології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.  
ORCID ID: 0000-0002-4287-8829

Смірнов С. М., д-р біол. наук, професор каф. медичної біології, гістології та ембріології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.  
ORCID ID: 0000-0002-8197-5752

## Сведения об авторах:

Смирнов А. С., канд. мед. наук, доцент каф. медицинской биологии, гистологии и эмбриологии, ГУ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.

Мирзєбасов М. А., ассистент каф. медицинской биологии, гистологии и эмбриологии, ГУ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.

Смирнов С. М., д-р биол. наук, профессор каф. медицинской биологии, гистологии и эмбриологии, ГУ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.

## Information about authors:

Smirnov A. S., MD, PhD, Associate Professor of the Medical Biology, Histology and Embryology Department, SI «Lugansk State Medical University», Rubizhne, Ukraine.

Mirzєbasov M. A., Assistant of the Medical Biology, Histology and Embryology Department, SI «Lugansk State Medical University», Rubizhne, Ukraine.

Smirnov S. M., PhD, DSc, Professor of the Medical Biology, Histology and Embryology Department, SI «Lugansk State Medical University», Rubizhne, Ukraine.

## Список літератури

- [1] Apoptotic cell death in rat epididymis following epichlorohydrin treatment / Lee I. et al. *Human & Experimental Toxicology*. 2013. Vol. 32. Issue 6. P. 640-646. doi: 10.1177/0960327112467042
- [2] Assessing the impact of benzo[a]pyrene with the in vitro fish gut model: An integrated approach for eco-genotoxicological studies / L. Langan, S. Arossa, S. Owen, A. Jha. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*. 2018. Vol. 826. P. 53-64. doi: 10.1016/j.mrgentox.2017.12.009

- [3] Schiavoni G., D'Amato G., Afferni C. The dangerous liaison between pollens and pollution in respiratory allergy. *Annals Of Allergy, Asthma & Immunology*. 2017. Vol. 118. Issue 3. P. 269-275. doi: 10.1016/j.ana.2016.12.019
- [4] Climate change, food, water and population health in China / Tong S. et al. *Bulletin Of The World Health Organization*. 2016. Vol. 94. Issue 10. P. 759-765. doi: 10.2471/blt.15.167031
- [5] Decreased lung function associated with occupational exposure to epichlorohydrin and the modification effects of glutathione s-transferase polymorphisms / J. Luo, T. Cheng, H. Kuo, M. Chang. *Journal Of Occupational And Environmental Medicine*. 2004. Vol. 46. Issue 3. P. 280-286. doi: 10.1097/01.jom.0000116807.73005.97
- [6] Determination of epichlorohydrin in workplace air by gas chromatograph-electron capture detector / Wan X. et al. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*. 2015. Vol. 33. Issue 4. P. 307-309.
- [7] Echinacea purpurea -derived alkylamides exhibit potent anti-inflammatory effects and alleviate clinical symptoms of atopic eczema / Oláh A. et al. *Journal Of Dermatological Science*. 2017. Vol. 88. Issue 1. P. 67-77. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.05.015
- [8] Effects of cichoric acid extract from Echinacea purpurea on collagen-induced arthritis in rats / L. Jiang et al. *The American Journal Of Chinese Medicine*. 2014. Vol. 42. Issue 03. P. 679-692. doi: 10.1142/s0192415x1450044x
- [9] Effects of Echinacea purpurea on hepatic and renal toxicity induced by diethylnitrosamine in rats / A. Rezaie et al. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*. 2013. Vol. 8. Issue 2. P. 60-64.
- [10] Exposure to welding fumes activates DNA damage response and redox-sensitive transcription factor signalling in Sprague-Dawley rats / J. Krishnaraj et al. *Toxicology Letters*. 2017. Vol. 274. P. 8-19. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.04.001
- [11] Formation of epichlorohydrin, a known rodent carcinogen, following oral administration of 1,3-dichloro-2-propanol in rats / S. Waidyanatha, N. Gaudette, Y. Hong, T. Fennell. *Chemical Research In Toxicology*. 2014. Vol. 27. Issue 10. P. 1787-1795. doi: 10.1021/tx500239q
- [12] Immune System Reaction against Environmental Pollutants / T. Tanabe et al. *Nippon Eiseigaku Zasshi (Japanese Journal Of Hygiene)*. 2015. Vol. 70. Issue 2. P. 115-119. doi: 10.1265/jjh.70.115
- [13] Impact of chlorpyrifos on human villous trophoblasts and chorionic villi / M. Ridano et al. *Toxicology And Applied Pharmacology*. 2017. Vol. 329. P. 26-39. doi: 10.1016/j.taap.2017.05.026
- [14] Induction of Oxidative Stress in the Epididymis of Rats After Subchronic Exposure to Epichlorohydrin / I. Shin et al. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*. 2010. Vol. 84. Issue 6. P. 667-671. doi: 10.1007/s00128-010-0018-9
- [15] Nikolaeva O., Smirnov A. Status of euchromatin in mucous cells nuclei of pyloric glands after inhalation of epichlorohydrin and correction of emerging changes. *Inter Collegas*. 2017. Vol. 4. Issue 1. P. 29-32. doi: 10.35339/ic.4.1.29-32
- [16] One-generation reproductive toxicity study of epichlorohydrin in Sprague-Dawley rats / I. Shin et al. *Drug And Chemical Toxicology*. 2010. Vol. 33. Issue 3. P. 291-301. doi: 10.3109/01480541003734030
- [17] Risk Assessment of Workers' Exposure to Volatile Organic Compounds in the Air of a Petrochemical Complex in Iran / F. Shanh, S. Rahimnejad, A. Bahrami, M. Farhadian. *Indian Journal Of Occupational And Environmental Medicine*. 2017. Vol. 21. Issue 3. P. 121-127. doi: 10.4103/ijoom.ijoom\_86\_17
- [18] Rutkowska A., Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovary syndrome and environmental toxins. *Fertility And Sterility*. 2016. Vol. 106. Issue 4. P. 948-958. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.031
- [19] Saeedi Saravi S., Dehpour A. Potential role of organochlorine pesticides in the pathogenesis of neurodevelopmental, neurodegenerative, and neurobehavioral disorders: A review. *Life Sciences*. 2016. Vol. 145. P. 255-264. doi: 10.1016/j.lfs.2015.11.006
- [20] Simultaneous determination and pharmacokinetic study of four phenol compounds in rat plasma by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry after oral administration of Echinacea purpurea extract / C. Gan et al. *Journal Of Separation Science*. 2016. Vol. 39. Issue 9. P. 1628-1637. doi: 10.1002/jssc.201600051
- [21] Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of Echinacea purpurea and Echinacea angustifolia extracts / R. Aarland et al. *Pharmaceutical Biology*. 2017. Vol. 55. Issue 1. P. 649-656. doi: 10.1080/13880209.2016.1265989
- [22] Taboureau O., Audouze K. Human environmental disease network: A computational model to assess toxicology of contaminants. *ALTEX*. 2017. Vol. 34. Issue 2. P. 289-300. doi: 10.14573/altex.1607201
- [23]  $\beta$ -carotene and retinol reduce benzo[a]pyrene-induced mutagenicity and oxidative stress via transcriptional modulation of xenobiotic metabolizing enzymes in human HepG2 cell line / W. Darwish et al. *Environmental Science And Pollution Research*. 2017. Vol. 25. Issue 7. P. 6320-6328. doi: 10.1007/s11356-017-0977-z
- [24] Влияние экстракта эхинацеи пурпурной на структуру слизистой оболочки и количество клеток собственных желез слизистой оболочки фундального отдела желудка крыс / Кувенёва М. Л., Лузин В. И., Морозов В. Н., Морозова Е. Н. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2016. № 2. С. 66-68. doi: 10.21626/vestnik/2016-2/12
- [25] Влияние экстрактов лекарственных растений байкальского региона на показатели иммунитета и гемостаза при экспериментальном иммунодефиците / П. Б. Цыдендамбаев, И. Р. Балданова, А. Ю. Ерентуева, Л. Р. Абидуева. *Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация*. 2018. № 1. С. 9-16.
- [26] Волошина И. С. Особенности коррекции тиотриазолином морфологических изменений простаты и семенных пузырьков крыс, вызванных воздействием паров эпихлоргидрина. *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2017. № 4. С. 133-139. doi: 10.23648/UMBJ.2017.28.8751
- [27] Волошина І. С. Гістологічна будова внутрішніх органів репродуктивної системи статевозрілих щурів самців після тривалого впливу на організм епіхлоргідрину. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. Вип. 1. №. 106. С. 230-236.
- [28] Высоцкий И. Ю., Высоцкая Е. И. Влияние метаболитотропных препаратов на некоторые показатели энергетического обмена в условиях острого токсического поражения печени летучими компонентами эпоксидной смолы ЭД-20. *Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина*. 2009. № 1. С. 15-21.
- [29] Высоцкий И. Ю. Фармакологическая коррекция нарушения простаглицлин-тромбоксанового равновесия при остром токсическом поражении печени летучими компонентами диановой эпоксидной смолы. *Сучасні проблеми токсикології*. 2005. № 1. С. 51-56.
- [30] Гаврилов В. А., Лузин В. И. Рост и формирование нижней челюсти у белых крыс различного возраста после 60-дневного воздействия паров эпихлоргидрина. *Світ медицини та біології*. 2014. № 4(47). С. 93-97.
- [31] Гистоморфометрические параметры дистальных извитых канальцев почек крыс различных возрастных групп на фоне ингаляционного воздействия толуола с применением корректоров / В. И. Лузин, О. Н. Фастова, В. Н. Морозов, Е. Н. Морозова. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2016. № 5. С. 99-103.
- [32] Демкович А. С. Вплив тиотриазоліну на активність цитокіногенезу у крові в процесі розвитку експериментального постекстракційного альвеоліту. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. Т. 1(113). № 4. С. 355-359.
- [33] Динамика клеточной пролиферации в печени крыс в раннем постнатальном онтогенезе и роль эпидермального фактора роста в организации пролиферативного режима / В. Б. Захаров, С. Н. Смирнов, С. Г. Мамонтов, Е. Т. Захарова. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2005. Т. 139. № 5. С. 585-588.
- [34] Изменения иммунореактивности у работников химических производств в зависимости от дозовой нагрузки токсикантами / С. Ф. Шахметов, Г. М. Бодиевкова, Н. М. Мещакова, С. И. Курчевенко. *Гигиена и санитария*. 2012. Т. 91. № 4. С. 40-43.
- [35] Касимов Ш. А., Джалилов А. Т., Тураев Х. Х. Синтез сорбента на основе ди-(2-аминоэтила)-дитиофосфата калия и эпихлоргидрина. *Universum: химия и биология*. 2017. № 9(39). С. 16-21.
- [36] Лузин В. И., Скоробогатов А. Н., Морозов В. Н. Особенности роста костей скелета белых крыс различного возраста после ингаляционной затравки толуолом. *Таврический медико-биологический вестник*. 2013. Т. 16. № 1(1). С. 135-138.
- [37] Место тиотриазолина в галерее современных метаболитотропных лекарственных средств / И. Ф. Беленичев, В. А. Визир, В. И. Мамчур, А. В. Курята. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21. № 1(112). С. 118-128. doi: 10.14739/2310-1210.2019.1.155856
- [38] Мустафаева Р. Э., Мовлаев И. Г., Ибрагимова С. М. Получение и исследование резиновой смеси на основе изопренового и модифицированного олигоэфирметакрилатом эпихлоргидрина будадиен-стирольного каучуков. *Промышленное производство и использование эластомеров*. 2015. № 1. С. 37-39.
- [39] Синергичные нейротрофические эффекты пирacetama и тиотриазолина / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, А. В. Пронин, А. Ю. Волков. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2016. Т. 8. № 1. С. 86-89. doi: 10.14412/2074-2711-2016-1-86-89
- [40] Скоробогатов А. Н., Пастухова В. А. Возрастные особенности роста и формирования костей скелета после 60-дневного воздействия на организм паров эпихлоргидрина. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Т. 4. № 2. С. 140-144.
- [41] Скоробогатов А. Н., Гаврилов В. А. Прочностные характеристики нижних челюстей и плечевых костей у неполовозрелых белых крыс после длительного влияния паров толуола. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. Т. 2. № 2. С. 138-141.
- [42] Скринінг і порівняльна оцінка ефективності засобів детоксикації серед координаційних сполук германію з біоплігандами при синдромі

- тривало го розчавлювання / В. Д. Лук'ячук та ін. *Одеський медичний журнал*. 2007. № 1(99). С. 15-19.
- [43] Смирнов А. С., Смирнов С. Н., Мирзезабасов М. А. Изменения состояния секреторных гранул поверхностных эпителиоцитов слизистой оболочки пилорического отдела желудка крыс при действии эпихлоридрина. *Запорожский медицинский журнал*. 2016. № 5(98). С. 89-92. doi: 10.14739/2310-1210.2016.5.82693
- [44] Смирнов С. Н. Взаимодействие десимпатизации и тиреоидных гормонов в организации ритмов ДНК-синтетической и митотической активности эпителиоцитов языка неполовозрелых крыс. *Український морфологічний альманах*. 2010. Т. 8. № 2. С. 200-202.
- [45] Состояние и динамика нарушений иммунореактивности у работников химических производств / Г. М. Бодиевкова, Е. В. Боклаженко, С. И. Курчевенко, Р. Ю. Алексеев. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2014. № 1(95). С. 9-13.
- [46] Сур С. В., Солобоюкова Н. А., Макаров А. А. Фармакоэкономический анализ лечения пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST в Украине. *Медицина неотложных состояний*. 2015. № 6(69). С. 30-35.
- [47] Экологическая морфология органов эндокринной, иммунной и костной систем в условиях хронического ингаляционного влияния летучих компонентов эпоксидных смол / В. Г. Ковешников и др. *Астраханский медицинский журнал*. 2013. Т. 8. № 1. С. 128-130.
- [48] Экспериментальное исследование влияния тиотриазолина на органы и системы организма / В. Г. Ковешников и др. *Запорожский медицинский журнал*. 2010. Т. 12. № 5. С. 174-176.
- [49] Эффективность патогенетического лечения у больных туберкулезом легких с экссудативным типом воспалительной тканевой реакции / Л. А. Шовкун и др. *Медицинский вестник Юга России*. 2016. № 1. С. 87-91.
- References**
- [1] Lee, I., Kim, K., Kim, S., Baek, H., Moon, C., & Kim, S. et al. (2013). Apoptotic cell death in rat epididymis following epichlorohydrin treatment. *Human & Experimental Toxicology*, 32(6), 640-646. doi: 10.1177/0960327112467042
- [2] Langan, L., Arossa, S., Owen, S., & Jha, A. (2018). Assessing the impact of benzo[a]pyrene with the in vitro fish gut model: An integrated approach for eco-genotoxicological studies. *Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 826, 53-64. doi: 10.1016/j.mrgentox.2017.12.009
- [3] Schiavoni, G., D'Amato, G., & Afferni, C. (2017). The dangerous liaison between pollens and pollution in respiratory allergy. *Annals Of Allergy, Asthma & Immunology*, 118(3), 269-275. doi: 10.1016/j.anai.2016.12.019
- [4] Tong, S., Berry, H., Ebi, K., Bambrick, H., Hu, W., & Green, D. et al. (2016). Climate change, food, water and population health in China. *Bulletin Of The World Health Organization*, 94(10), 759-765. doi: 10.2471/blt.15.167031
- [5] Luo, J., Cheng, T., Kuo, H., & Chang, M. (2004). Decreased lung function associated with occupational exposure to epichlorohydrin and the modification effects of glutathione s-transferase polymorphisms. *Journal Of Occupational And Environmental Medicine*, 46(3), 280-286. doi: 10.1097/01.jom.0000116807.73005.97
- [6] Wan, X., Zhao, Z., Qiu, J., Guo, Y., & Wu, J. (2015). Determination of epichlorohydrin in workplace air by gas chromatograph-electron capture detector. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi*, 33(4), 307-309. [in Chinese].
- [7] Oláh, A., Szabó-Papp, J., Soeberdt, M., Krnie, U., Dähnhardt-Pfeiffer, S., Abels, C., & Bíró, T. (2017). Echinacea purpurea-derived alkylamides exhibit potent anti-inflammatory effects and alleviate clinical symptoms of atopic eczema. *Journal Of Dermatological Science*, 88(1), 67-77. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.05.015
- [8] Jiang, L., Li, W., Wang, Y., Zhang, X., Yu, D., & Yin, Y. et al. (2014). Effects of cichoric acid extract from Echinacea purpurea on collagen-induced arthritis in rats. *The American Journal Of Chinese Medicine*, 42(03), 679-692. doi: 10.1142/s0192415x1450044x
- [9] Rezaie, A., Fazlara, A., Haghi Karamollah, M., Shahriari, A., Najaf Zadeh, H., & Pashmforosh, M. (2013). Effects of Echinacea purpurea on hepatic and renal toxicity induced by diethylnitrosamine in rats. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 8(2), 60-64.
- [10] Krishnaraj, J., Kowshik, J., Sebastian, R., Raghavan, S., & Nagini, S. (2017). Exposure to welding fumes activates DNA damage response and redox-sensitive transcription factor signalling in Sprague-Dawley rats. *Toxicology Letters*, 274, 8-19. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.04.001
- [11] Waidyanatha, S., Gaudette, N., Hong, Y., & Fennell, T. (2014). Formation of epichlorohydrin, a known rodent carcinogen, following oral administration of 1,3-dichloro-2-propanol in rats. *Chemical Research In Toxicology*, 27(10), 1787-1795. doi: 10.1021/tx500239q
- [12] Tanabe, T., Yamaguchi, N., Okuda, M., Ishimaru, Y., & Takahashi, H. (2015). Immune System Reaction against Environmental Pollutants. *Nippon Eiseigaku Zasshi (Japanese Journal Of Hygiene)*, 70(2), 115-119. doi: 10.1265/jjh.70.115 [in Japanese].
- [13] Ridano, M., Racca, A., Flores-Martin, J., Fretes, R., Bandeira, C., & Reyna, L. et al. (2017). Impact of chlorpyrifos on human villous trophoblasts and chorionic villi. *Toxicology And Applied Pharmacology*, 329, 26-39. doi: 10.1016/j.taap.2017.05.026
- [14] Shin, I., Lim, J., Kim, S., Kim, K., Park, N., & Bae, C. et al. (2010). Induction of Oxidative Stress in the Epididymis of Rats After Subchronic Exposure to Epichlorohydrin. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, 84(6), 667-671. doi: 10.1007/s00128-010-0018-9
- [15] Nikolaeva, O., & Smirnov, A. (2017). Status of euchromatin in mucous cells nuclei of pyloric glands after inhalation of epichlorohydrin and correction of emerging changes. *Inter Collegas*, 4(1), 29-32. doi: 10.35339/ic.4.1.29-32
- [16] Shin, I., Park, N., Lee, J., Kim, K., Moon, C., & Kim, S. et al. (2010). One-generation reproductive toxicity study of epichlorohydrin in Sprague-Dawley rats. *Drug And Chemical Toxicology*, 33(3), 291-301. doi: 10.3109/01480541003734030
- [17] Shanh, F., Rahimnejad, S., Bahrami, A., & Farhadian, M. (2017). Risk Assessment of Workers' Exposure to Volatile Organic Compounds in the Air of a Petrochemical Complex in Iran. *Indian Journal Of Occupational And Environmental Medicine*, 21(3), 121-127. doi: 10.4103/ijoem.ijoem\_86\_17
- [18] Rutkowska, A., & Diamanti-Kandarakis, E. (2016). Polycystic ovary syndrome and environmental toxins. *Fertility And Sterility*, 106(4), 948-958. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.031
- [19] Saeedi Saravi, S., & Dehpour, A. (2016). Potential role of organochlorine pesticides in the pathogenesis of neurodevelopmental, neurodegenerative, and neurobehavioral disorders: A review. *Life Sciences*, 145, 255-264. doi: 10.1016/j.lfs.2015.11.006
- [20] Gan, C., Liu, L., Du, Y., Wang, L., Gao, M., & Wu, L. et al. (2016). Simultaneous determination and pharmacokinetic study of four phenol compounds in rat plasma by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry after oral administration of Echinacea purpurea extract. *Journal Of Separation Science*, 39(9), 1628-1637. doi: 10.1002/jssc.201600051
- [21] Aarland, R., Bañuelos-Hernández, A., Fragoso-Serrano, M., Siera-Palacios, E., Díaz de León-Sánchez, F., & Pérez-Flores, L. et al. (2017). Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of Echinacea purpurea and Echinacea angustifolia extracts. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 649-656. doi: 10.1080/13880209.2016.1265989
- [22] Taboureau, O., & Audouze K. (2017). Human environmental disease network: A computational model to assess toxicology of contaminants. *ALTEX*, 34(2), 289-300. doi: 10.14573/altex.1607201
- [23] Darwish, W., Ikenaka, Y., Nakayama, S., Mizukawa, H., Thompson, L., & Ishizuka, M. (2017).  $\beta$ -carotene and retinol reduce benzo[a]pyrene-induced mutagenicity and oxidative stress via transcriptional modulation of xenobiotic metabolizing enzymes in human HepG2 cell line. *Environmental Science And Pollution Research*, 25(7), 6320-6328. doi: 10.1007/s11356-017-0977-z
- [24] Kuvencova, M. L., Luzin, V. I., Morozov, V. N., & Morozova, E. N. (2016). Vliyanie jekstrakta jehinacei purpurnoj na strukturu slizistoj obolochki i kolichestvo kletok sobstvennyh zhelez slizistoj obolochki fundalnogo otdela zheludka krysa [Influence of echinacea purple extract on the structure of the mucosa and number of proper gastric glands cells of fundic mucosa of rats' stomach]. *Kursk Scientific And Practical Bulletin "Man and His Health"*, 2, 66-68. doi: 10.21626/vestnik/2016-2/12 [in Russian].
- [25] Cydendambae, P. B., Baldanova, I. R., Erentueva, A. Ju., & Abidueva L. R. (2018). Vliyanie jekstraktov lekarstvennyh rastenij bajkalskogo regiona na pokazateli immuniteta i gemostaza pri jeksperimentalnom immunodefite [Extracts of medicinal plants in baikal region: their effect on the immunity and hemostasis indicators in case of experimental immunodeficiency]. *Bulletin of the Buryat State University. Medicine and pharmacy*, 1, 9-16. [in Russian].
- [26] Voloshina, I. S. (2017). Osobennosti korrekci tiotriazolinom morfoloicheskix izmenenij prostaty i semennyh puzyrkov krysa, vyzvannyh vozdejstviem parov jepihloridrina [Use of tiotriazoline for correction of morphological changes in rat's prostate and seminal vesicles caused by exposure to epichlorohydrin vapor]. *Ulyanovsk Medico-Biological Journal*, 4, 133-139. doi: 10.23648/UMB.2017.28.8751 [in Russian].
- [27] Voloshyna, I. S. (2014). Histoloichna budova vnutrishnikh orhaniv reproduktyvnoi systemy stevozrylykh shchuriv samsiv pislia tryvaloho vplyvu na orhanizm epiklorhidrynu [Changes in the histological structure of the internal organs of the reproductive system of immature rats after inhalation exposure to toluene]. *Bulletin of problems biology and medicine*, 1(106), 230-236. [in Ukrainian].
- [28] Vysockij, I. Ju., & Vysockaja, E. I. (2009). Vliyanie metabolitotropnyh preparatov na nekotorye pokazateli jenergeticheskogo obmena v uslovijah ostrogo toksicheskogo porazhenija pečeni letuchimi komponentami jepoksidnoj smoly JeD-20 [The influence of metabolitotropic medicines on some indices of energetic exchange in the conditions of acute toxic



- liver damage by flowing components of epoxyde tar ED-20]. *Journal of SSU. Series MEDICINE*, 1, 15-21. [in Russian].
- [29] Vysockij, I. Ju. (2005). Farmakologicheskaja korekcija narushenija prostaciklin-tromboksanovogo ravnovesija pri ostrom toksicheskom porazhenii pečeni letuchimi komponentami dianovoj jepoksidnoj smoly [Pharmacological correction of prostacyclin-thromboxane imbalance in acute toxic liver damage with volatile components of diene epoxy]. *Modern problems of toxicology*, 1, 51-56. [in Russian].
- [30] Gavrilo, V. A., & Luzin, V. I. (2014). Rost i formoobrazovanie nizhnej cheljusti u belyh kryš razlichnogo vozrasta posle 60-dnevnogo vozdejstvija parov jepihlorgidrina [Growth and formation of mandible in rats of different ages after 60-day inhalation of epichlorohydrin]. *World of medicine and biology*, 4(47), 93-97. [in Russian].
- [31] Luzin, V. I., Fastova, O. N., Morozov, V. N., & Morozova, E. N. (2016). Gistomorfometricheskie parametry distalnih izvityh kanalcev poček kryš razlichnyh vozrastnyh grupp na fone ingaljacionnogo vozdejstvija toluola s primeneniem korektorov [Histomorphometric parameters of renal distal convoluted tubules in rats of different age periods on the background of toluene inhalation with the use of correctors]. *Scientific bulletins of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacia*, 5(226), 99-103. [in Russian].
- [32] Demkovych, A. Ye. (2014). Vplyv tiotriazolinu na aktyvnist tsytokinohe-nezu u krovj v protsesi rozvytku eksperymentalnoho postekstraksiinoho alveolitu [Effect of thiotriazoline on development process of cytokine-genesis activity in experimental postextraction alveolitis]. *Bulletin of problems biology and medicine*, 1(4), 355-359. [in Ukrainian].
- [33] Zaharov, V. B., Smirnov, S. N., Mamontov, S. G., & Zaharova E. T. (2005). Dinamika kletочноj proliferacii v pečeni kryš v rannem post-natalnom ontogeneze i rol jepidermalnogo faktora rosta v organizacii proliferativnogo rezhima [Time course of cell proliferation in rat liver in the early postnatal ontogeny and role of epidermal growth factor in organization of proliferative regimen]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 139(5), 585-588. [in Russian].
- [34] Shajahmetov, S. F., Bodienkova, G. M., Meshhakova, N. M., & Kurchevenko S. I. (2012). izmenenija immunoreaktivnosti u rabotnikov himicheskijh proizvodstv v zavisimosti od dozovoj nagruzki toksikantami [Alterations of immunoreactivity in chemical production workers in dependence on dose exposure to toxicants]. *Hygiene and sanitation*, 91(4), 40-43. [in Russian].
- [35] Kasimov, Sh. A., Dzhallilov, A. T., & Turaev, H. H. (2017). Sintez sorbenta na osnove di-(2-aminojethyl)-ditiiofosfata kalija i jepihlorgidrina [The sorbent synthesis based on di-(2-aminoethyl)-dithiophosphate of potassium and epichlorohydrin]. *Universum: chemistry and biology*, 9(39), 16-21. [in Russian].
- [36] Luzin, V. I., Skorobogatov, A. N., & Morozov, V. N. (2013). Osobennosti rosta kostej skeleta belyh kryš razlichnogo vozrasta posle ingaljacionnoj zatravki toluolom [Features of bone growth in white rats of different ages after inhalation of toluene vapors]. *Taurian Medical and Biology Journal*, 16(1), 135-138. [in Russian].
- [37] Belenichev, I. F., Vizir, V. A., Mamchur, V. I., & Kurjata, A. V. (2019). Mesto tiotriazolina v galeree sovremennyh metabolitotropnyh lekarstvennyh sredstv [Place of thiotriazoline in the gallery of modern metabolotropic medicines]. *Zaporozhye medical journal*, 21(1), 118-128 doi: 10.14739/2310-1210.2019.1.155856 [in Russian].
- [38] Mustafaeva, R. Je., Movlaev, I. G., & Ibragimova, S. M. (2015). Poluchenie i issledovanie rezinovoj smesi na osnove izoprenovogo i modifirovannogo oligoefirmetakrilatom jepihlorgidrina butadien-stirolnogo kauchukov [Obtaining and investigation of rubber mixtures on the basis of isoprene and modified oligoethermetacrylate epichlorohydrine by styrene butadiene rubber]. *Industrial production and use of elastomers*, 1, 37-39. [in Russian].
- [39] Gromova, O. A., Torshin, I. Ju., Pronin, A. V., & Volkov, A. Ju. (2016). Sinergichnye nejrotroficheskie jeffekty piracetama i tiotriazolina [Synergistic neurotrophic effects of piracetam and thiotriazoline]. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*, 8(1), 86-89. doi: 10.14412/2074-2711-2016-1-86-89 [in Russian].
- [40] Skorobogatov, A. N., & Pastuhova, V. A. (2017). Vozrastnye osobennosti rosta i formoobrazovanija kostej skeleta posle 60-dnevnogo vozdejstvija na organizm parov jepihlorgidrina [Age peculiarities of growth and formation of skeletal bones after influence of the 60-day exposure to epichlorohydrin vapor on organism]. *Bulletin of problems biology and medicine*, 4(2), 355-359. [in Russian].
- [41] Skorobogatov, A. N., & Gavrilo, V. A. (2014). Prochnostnye karakteristiki nizhnyh cheljjustej i plečevykh kostej u nepolovozrelyh belyh kryš posle dlitel'nogo vlijanija parov toluola [Strength features of rat mandible and humerus after long-term influence of toluene vapors]. *Bulletin of problems biology and medicine*, 2(2), 138-141. [in Russian].
- [42] Lukianchuk, V. D., Seifullina, I. Y., Rysukhina, N. V., Martsynko, O. E., & Tkachenko V. M. (2007). Skryninijh i porivnialna otsinka jeffektivnosti zasobiv detoksykatsii sereď koordynatsiinykh spoluk hermaniiu z bilohandamy pry syndromi tryvaloho rozchavljuvannia [Screening and comparative efficiency analysis of detoxicative remedies among organic germanium compounds in crush syndrome]. *Odessa medical journal*, 1(99), 15-19. [in Ukrainian].
- [43] Smirnov, A. S., Smirnov, S. N., & Mirzebasov, M. A. (2016). Izmenenija sostojanija sekretornyh granul poverhnostnyh jepitelocitov sliziztoj obolochki piloricheskogo otdela zheludka kryš pri dejstvii jepihlorgidrina [Changes the state of secretory granules of the superficial epitheliocytes of the pyloric mucous membrane in the stomach of rats under the action of epichlorohydrin]. *Zaporozhye medical journal*, 5(98), 89-92. doi: 10.14739/2310-1210.2016.5.82693 [in Russian].
- [44] Smirnov, S. N. (2010). Vzaimodejstvie desimpatizacii i tireoidnyh gormonov v organizacii ritmov DNK-sinteticheskij i mitoticheskij aktivnosti jepitelocitov jazyka nepolovozrelyh kryš [Co-operation of sympathectomy and thyroxin in the regulation of ton-gue's epithelial cells division of immature rats]. *Ukrainian morphological Almanac*, 8(2), 200-202. [in Russian].
- [45] Bodienkova, G. M., Boklazhenko, E. V., Kurchevenko, S. I., & Alekseev, R. Ju. (2014). Sostojanie i dinamika narushenij immunoreaktivnosti u rabotnikov himicheskijh proizvodstv [Disorder state and dynamics of immune responsiveness in employees of chemical productions]. *Bulletin of the ESRC SB RAMS*, 1(95), 9-13. [in Russian].
- [46] Sur, S. V., Solobjukova, N. A., & Makarov, A. A. (2015). Farmakoeconomic-micheskij analiz lechenija pacientov s ostrym koronarnym sindromom bez podema segmenta ST v Ukraine [Pharmacoeconomic analysis of treating patients with acute coronary syndrome without ST-segment elevation in Ukraine]. *Emergency medicine*, 6(69), 30-35. [in Russian].
- [47] Koveshnikov, V. G., Fomina, K. A., Luzin, V. I., Voloshin, V. N., Voloshina, I. S., & Shutov, E. Ju. et al. (2013). Jekologicheskaja morfologija organov jendokrinoj, immunnoj i kostnoj sistem v uslovijah hronicheskogo ingaljacionnogo vlijanija letuchijh komponentov jepoksidnyh smol [The ecological morphology of the organs of endocrine, immune and bone systems under the of chronic inhalation influence of volatile components of epoxy resins]. *Astrakhan medical journal*, 8(1), 128-130. [in Russian].
- [48] Koveshnikov, V. G., Fomina K. A., Voloshin, V. N., Rykova, Ju. A., Belik, I. A., & Gladkova, A. N. et al. (2010). Jeksperimentalnoe issledovanie vlijanija tiotriazolina na organy i sistemy organizma [Experimental study of the influence of thiotriazoline on organs and systems of the organism]. *Zaporozhye medical journal*, 12(5), 174-176. [in Russian].
- [49] Shovkun, L. A., Kampos, E. D., Konstantinova, A. V., Franchuk, I. M., & Volodko, N. A. (2016). Jefferektivnost patogeneticheskogo lechenija u bolnyh tuberkulezom legkih s jeksussdativnym tipom vospalitelnoj tkanevoj reakcii [Efficiency pathogenetic treatment of patients with pulmonary tuberculosis with exudative type inflammatory tissue reaction]. *Medical Herald of the South of Russia*, 1, 87-91. [in Russian].

# The effects of cell-free extracts derived from probiotic strains *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri* on the proliferation and biofilm formation by *Lactobacillus reuteri* *in vitro*

O. V. Knysh\*

State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv

## Key words:

proliferation, probiotic derivatives, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus reuteri*.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (6), 828–834

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186711

\*E-mail: knysh\_oksana@ukr.net

**The aim** of the research was to investigate the ability of cell-free extracts, containing derivatives of probiotic strains *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri*, to influence the proliferation and biofilm formation by *Lactobacillus reuteri* *in vitro*; to evaluate the prospects for the creation of new metabiotics and means of increasing the overall productivity of probiotic cell biomass based on them.

**Materials and methods.** Cell-free extracts were obtained from probiotic strains *B. bifidum* 1 and *L. reuteri* DSM 17938 by the authors' method. Probiotic strain *L. reuteri* DSM 17938 used as a test culture. The investigation of the proliferation and biofilm formation by *L. reuteri* was carried out by spectrophotometric method using a microtiter-plate reader "Lisa Scan EM" (Erba Lachema s.r.o., Czech Republic).

**Results.** It has been established that the cell-free extract obtained from *L. reuteri* culture grown in its own disintegrate, supplemented with glycerol and glucose, is the only one of all studied, which stimulates both proliferation and biofilm formation by *L. reuteri*. The cell-free extracts, obtained from *L. reuteri* and *B. bifidum* disintegrates and from *L. reuteri* culture, grown in its own disintegrate, stimulate proliferation of test-culture to varying degrees (depending on the type of extract and its content in the culture medium), but have a significant inhibitory effect on the biofilm formation by *L. reuteri*. The extract, obtained from *B. bifidum* culture, grown in its own disintegrate, does not have a significant effect on proliferation and greatly suppresses the biofilm formation by *L. reuteri*.

**Conclusions.** The results of the study allow us to positively evaluate the prospects for the creation of new metabiotics based on probiotic derivatives. Cell-free extract, obtained from *L. reuteri* culture, grown in its own disintegrate supplemented with glycerol and glucose can contribute to the survival and facilitate inoculation of the introduced probiotic in the gastrointestinal tract when used together.

Derivative-containing extracts with a pronounced growth-stimulating effect can be the basis for creating the means of increasing the overall productivity of the probiotic cell biomass. The use of such means will increase the economic efficiency of probiotic cultures production. Obtained data induce further study of the biochemical composition, elucidation of the mechanism of cell-free extracts action and confirmation of their efficacy *in vivo*.

## Ключові слова:

проліферація, деривати пробіотиків, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus reuteri*.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 828–834

## Вплив безклітинних екстрактів, що отримані з пробіотичних штамів *Bifidobacterium bifidum* та *Lactobacillus reuteri*, на проліферацію та біоплівкоутворення *Lactobacillus reuteri* *in vitro*

О. В. Книш

**Мета роботи** – дослідити здатність безклітинних екстрактів, що містять деривати пробіотичних штамів *Bifidobacterium bifidum* і *Lactobacillus reuteri*, впливати на проліферацію та біоплівкоутворення *Lactobacillus reuteri* *in vitro*; оцінити перспективи створення на їхній основі нових метабіотиків, засобів підвищення загальної продуктивності клітинної біомаси пробіотика.

**Матеріали та методи.** Безклітинні екстракти отримували з пробіотичних штамів *B. bifidum* 1 і *L. reuteri* DSM 17938 за методом, що розроблений авторами. Пробиотичний штам *L. reuteri* DSM 17938 використовували як тест-культуру. Проліферацію та біоплівкоутворення *L. reuteri* досліджували спектрофотометричним методом за допомогою мікропланшетного аналізатора «Lisa Scan EM» («Erba Lachema s.r.o.», Чеська Республіка).

**Результати.** Безклітинний екстракт, який отримали з культури *L. reuteri*, що вирощена у власному дезінтеграті з додаванням гліцерину та глюкози, є єдиним з усіх досліджених, котрий стимулює і проліферацію, і біоплівкоутворення *L. reuteri*. Безклітинні екстракти, що отримані з дезінтегратів *L. reuteri* і *B. bifidum* і з культури *L. reuteri*, вирощеної у власному дезінтеграті, стимулюють проліферацію тест-культури різною мірою (залежно від типу екстракту та його вмісту в середовищі культивування), але мають значущий інгібіторний вплив на біоплівкоутворення *L. reuteri*. Екстракт, що отриманий з культури *B. bifidum*, вирощеної у власному дезінтеграті, не має істотного впливу на проліферацію та суттєво пригнічує біоплівкоутворення *L. reuteri*.

**Висновки.** Результати дослідження дають можливість позитивно оцінити перспективи створення нових метабіотиків на основі пробіотичних похідних. Безклітинний екстракт, що отриманий з культури *L. reuteri*, яка вирощена у власному дезінтеграті з додаванням гліцерину та глюкози, може сприяти виживанню та полегшувати інюкацію введеного пробіотика у шлунково-кишковому тракті при поєднаному використанні.

Дериват-вмісні екстракти з вираженим ріст-стимулювальним ефектом можуть стати основою для створення засобів підвищення загальної продуктивності клітинної біомаси пробіотика. Використання таких засобів підвищить економічну ефективність виробництва пробіотичних культур. Результати спонукають до продовження вивчення біохімічного складу, з'ясування механізму дії безклітинних екстрактів і підтвердження їхньої ефективності *in vivo*.

## Влияние бесклеточных экстрактов, полученных из пробиотических штаммов *Bifidobacterium bifidum* и *Lactobacillus reuteri*, на пролиферацию и биопленкообразование *Lactobacillus reuteri in vitro*

О. В. Кныш

**Цель работы** – исследовать способность бесклеточных экстрактов, содержащих дериваты пробиотических штаммов *Bifidobacterium bifidum* и *Lactobacillus reuteri*, влиять на пролиферацию и биопленкообразование *Lactobacillus reuteri in vitro*; оценить перспективы создания на их основе новых метаболитов и средств повышения общей производительности клеточной биомассы пробиотика.

**Материалы и методы.** Бесклеточные экстракты получали из пробиотических штаммов *B. bifidum* 1 и *L. reuteri* DSM 17938 методом, разработанным авторами. Пробиотический штамм *L. reuteri* DSM 17938 использовали в качестве тест-культуры. Пролиферацию и биопленкообразование *L. reuteri* исследовали спектрофотометрическим методом с помощью микропланшетного анализатора «Lisa Scan EM» («Erba Lachema s.r.o.», Чешская Республика).

**Результаты.** Бесклеточный экстракт, полученный из культуры *L. reuteri*, выращенной в собственном дезинтеграте с добавлением глицерина и глюкозы, – единственный из всех исследованных, который стимулирует и пролиферацию, и биопленкообразование *L. reuteri*. Бесклеточные экстракты, полученные из дезинтегратов *L. reuteri* и *B. bifidum* и культуры *L. reuteri*, выращенной в собственном дезинтеграте, стимулируют пролиферацию тест-культуры в разной степени (в зависимости от типа экстракта и его содержания в среде культивирования), но имеют значительное ингибиторное влияние на биопленкообразование *L. reuteri*. Экстракт, полученный из культуры *B. bifidum*, выращенной в собственном дезинтеграте, не имеет существенного влияния на пролиферацию и значительно подавляет биопленкообразование *L. reuteri*.

**Выводы.** Результаты исследования позволяют положительно оценить перспективы создания новых метаболитов на основе пробиотических производных. Бесклеточный экстракт, полученный из культуры *L. reuteri*, выращенной в собственном дезинтеграте с добавлением глицерина и глюкозы, может способствовать выживанию и облегчать инокуляцию введенного пробиотика в желудочно-кишечном тракте при совместном использовании.

Дериват-содержащие экстракты с выраженным рост-стимулирующим эффектом могут стать основой для создания средств повышения общей продуктивности клеточной биомассы пробиотика. Использование таких средств повысит экономическую эффективность производства пробиотических культур. Полученные данные побуждают к дальнейшему изучению биохимического состава, выяснения механизма действия бесклеточных экстрактов и подтверждения их эффективности *in vivo*.

### Ключевые слова:

пролиферация, дериваты пробиотиков, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus reuteri*.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 828–834

*Lactobacillus reuteri* is one of the first microorganisms colonizing the gut of newborns and determining the subsequent development of the immune system. This microorganism is an important natural inhabitant of human breast milk, skin, urinary tract, and occupies a special position in the gut ecosystem [1–3]. *L. reuteri* belongs to probiotic microorganisms due to a number of beneficial effects for the host organism. These lactobacilli regulate the composition of the microbiotas. They inhibit the growth of opportunistic and pathogenic microorganisms due to the production of antimicrobial substances (organic acids, ethanol, reuterin and reutericyclin) and compete for receptors and binding sites on the intestinal mucosa with other microbes, providing colonization resistance. Thereby *L. reuteri* strengthens the intestinal barrier and reduces the microbial translocation across the intestinal epithelium. It has been shown that *L. reuteri* have anti-inflammatory activity: it decreases the production of many pro-inflammatory cytokines, promote the formation of T<sub>reg</sub> cells and stimulate production of IL-10 [1]. *L. reuteri* also exhibits anti-cancer activity due to production of anti-carcinogenic compounds (short chain fatty acids) and reduction of intestinal absorption of endogenous and exogenous carcinogens [2,3].

According to the research of Gerhard Reiter and Tomonari Mitsuoka, in the middle of the past century *L. reuteri* was one of the dominant lactobacilli. In recent decades, along with a decrease in the bacterial diversity of the gut microbiota, reduction of the *L. reuteri* population size and low its prevalence in human is observed [4]. This phenomenon has arguably contributed to an increase in human immune dysregulation and other negative health consequences. In this regard, scientists proposed the Microbiome Rewil-

ding Hypothesis [5]. This hypothesis prompts to realize the need for “reintroduction” and engraftment of *L. reuteri* in the human gut.

*L. reuteri* as probiotic species is produced by BioGaia AB. *L. reuteri* DSM 17938 is the daughter strain of *L. reuteri* ATCC 55730 which has an important advantage: it does not possess undesirable plasmid resistance to antibiotics. There is much evidence of the effectiveness of *L. reuteri* DSM 17938 for the treatment and prevention of diseases in infants, children and adults: infantile colic and regurgitation, necrotizing enterocolitis, functional constipation or functional abdominal pain, diarrhea [1,3,4,6]. However, most studies show that the beneficial effect of *L. reuteri* is temporary and disappears after discontinuation of the probiotic taking [7–9]. Orally taken bacteria do not survive due to the damaging effects of physicochemical factors in the gastrointestinal tract, the effects of the host's immune system, competition with commensal and pathogenic bacteria [8]. Probably one of the serious reasons why *L. reuteri* leaves the gastrointestinal tract is the lack of important dietary substrates.

Taking into account the importance of *L. reuteri* for human health and significant benefits for functioning of the hosts' immune system, the development of methods aimed at improving survival and facilitating the inoculation of lactobacilli in the gastrointestinal tract has a significant therapeutic value. One way to increase the survival of bacteria is to protect them by encapsulation or adhesion to a semi-permeable biocompatible dextranomer microsphere in the form of a biofilm [8]. The second way is to use growth promoting prebiotic ingredients:  $\beta$ -galacto- oligosaccharides, lactulose, fructo-oligosaccharides, inulin, isomaltose [10]. An alternative approach to increasing colonization of

the gastrointestinal tract by beneficial microorganisms and enhancing the protective properties of the immune system is using the biological activity of the probiotics' derivatives [11–13].

### The aim

The aim of the research was to investigate the ability of cell-free extracts, containing derivatives of probiotic strains *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri*, to influence the proliferation and biofilm formation by *Lactobacillus reuteri in vitro*; to evaluate the prospects for the creation of new metabiotics and means of increasing the overall productivity of probiotic cell biomass based on them.

### Materials and methods

Five cell-free extracts containing probiotics' derivatives were investigated:

- *L* – filtrate of *L. reuteri* disintegrate;
- *ML* – filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate;
- *MLG* – filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate supplemented with 0.8 M (73.7 g/l) glycerol and 0.4 M (72.1 g/l) glucose;
- *B* – filtrate of *B. bifidum* disintegrate;
- *MB* – filtrate of *B. bifidum* culture, grown in *B. bifidum* disintegrate.

Disintegrates and probiotics' cultures were obtained from probiotic strains *B. bifidum* 1 (from medical product "Bifidumbacterin-Biopharma", JSC Biopharma, Ukraine) and *L. reuteri* DSM 17938 (from medical product "BioGaia", BioGaia Production AB, Sweden) using the method developed by the authors [14]. Disintegrates were prepared by tenfold cyclic freezing-thawing of the bacterial suspensions with an optical density of 10 units on the McFarland scale. Cultures were obtained by growing probiotic microorganisms in their own disintegrates for 72 hours. Disintegrates and cultures were centrifuged and passed through membrane filters (Vladipor, RF) with a pore diameter of 0.2 μm to remove microbial cells and cellular debris. As a result, cell-free extracts were received.

The probiotic strain *L. reuteri* DSM 17938 was used as a proliferating and biofilm-forming test culture. The lyophilized microbial mass was rehydrated and recovered by cultivation in tryptone soya broth (TSB; HiMedia, India) in microaerophilic conditions for 24 hours at 37 °C. After checking the purity of the culture, the cells were washed three times to remove the components of the nutrient medium. For this, the cell suspension was centrifuged for 10 min at 1500 g and the pellet was resuspended in a sterile isotonic saline solution (0.9 % NaCl). The inoculum was prepared from the suspension of washed cells. It was a microbial suspension in a physiological saline solution with an optical density of 10 units on the McFarland scale (~10<sup>9</sup> CFU/ml). The turbidity of the suspension was measured using the Densi-La-Meter II device (PLIVA-Lachema Diagnostika, Czech Republic).

*The study of the effect of cell-free extracts on the L. reuteri proliferation* was performed in sterile 96-well polystyrene microtiter plates (JSC "Eximcargotrade", Ukraine). TSB supplemented with 1 % glucose, cell-free extracts

and inoculums were added into the test wells in the ratio of 8:1:1; 6:3:1 and 4:5:1. Thus, the final concentration of each extract in the cultivation medium was 10 % vol, 30 % vol or 50 % vol. TSB supplemented with 1 % glucose, physiological saline (PhS) and inoculums were added into the positive control wells (PC) in the same ratio: *PC*<sub>10</sub> (10 % vol of the PhS in the cultivation medium); *PC*<sub>30</sub> (30 % vol of the PhS in the cultivation medium); *PC*<sub>50</sub> (50 % vol of the PhS in the cultivation medium). The final concentration of microbial cells in the test and positive control wells was ~10<sup>8</sup> CFU/ml. The negative control wells (*NC*) contained only TSB. The plates were covered with lids and incubated in microaerophilic static conditions for 24 hours at 35–37 °C. The optical density (OD) of the wells was measured at 578 nm using a microtiter-plate reader "Lisa Scan EM" ("Erba Lachema s.r.o.", Czech Republic). The inhibition (or stimulation) indices were calculated by the formula:  $InhI (StI) = (\Delta OD - \Delta OD_{PC}) \div \Delta OD_{PC} \times 100\%$ , where  $\Delta OD$  and  $\Delta OD_{PC}$  are the optical density gain in the test and positive control wells within 24 hours, respectively.

*The study of the effect of cell-free extracts on the biofilm formation by L. reuteri.* Cultivation of biofilms in the wells and subsequent detection by stain for biofilm recognition were performed according to the method of Stepanovic' et al. [15]. After measuring the optical density of the wells the plates were continued to incubate in microaerophilic static conditions for 24 hours at 35–37 °C. Then the contents of the wells were decanted into discard container. Each well was carefully washed three times with sterile 0.1 M phosphate-buffered saline (PBS; pH 7.2) using an appropriate micropipette. Plates were drained in an inverted position. Attached biofilms were fixed by exposing them to hot air at 60 °C for 60 min. Then they were stained by 1 % crystal violet for 15 min. After that, wells were washed ten times with purified water using a micropipette. Ethanol as an eluent was gently added into the wells for resolubilization of the dye. Microtiter plate covered with the lid and was left at room temperature for 30 min. The optical density (OD) of the eluate in the test and control wells was measured at 630 nm by using a microtiter-plate reader "Lisa Scan EM" ("Erba Lachema s.r.o.", Czech Republic). Based on the OD values obtained for *NC* and test samples, biofilm formation was defined as:

- weak ( $OD_{NC} < OD \leq 2 \times OD_{NC}$ );
- moderate ( $2 \times OD_{NC} < OD \leq 4 \times OD_{NC}$ );
- strong ( $4 \times OD_{NC} < OD$ );
- no biofilm formation ( $OD \leq OD_{NC}$ ), according to

the method for quantification of biofilm formation proposed by In Lee S. et al. [16].

The inhibition (or stimulation) indices were calculated by the formula:  $InhI (StI) = (OD - OD_{PC}) \div OD_{PC} \times 100\%$ , where  $OD$  and  $OD_{PC}$  are optical density of the test and control samples, respectively.

All experiments were performed three times. Each sample was tested in triplicate. Obtained data were statistically processed with Excel 2010 software (Microsoft, USA). Average values of obtained indices ( $OD$  or  $\Delta OD$ ) with standard deviations ( $SD$ ) were determined. The significance of the difference between the obtained indices of the test and control groups was determined by Student's *t*-test. Differences were considered significant at  $P < 0.05$ .

## Results

At the first stage of research, the effect of cell-free extracts on *L. reuteri* proliferation was studied. The data presented in Fig. 1 suggests that an increase in the volume of the *PhS* replacing the nutrient medium in the control sample from 10 % to 30 % and from 10 % to 50 %, is accompanied by a decrease in the optical density gain of the culture by an average of 13.8 % and 26.0 %, respectively. This is a dilution effect due to a decrease in the amount of nutrients in the cultivation medium. Introduction into the cultivation medium of the *L* extract at a concentration of 10 % leads to a significant increase in the optical density gain of the culture compared to  $PC_{10}$  (StI is 24.5 %). *ML* and *MLG* cell-free extracts at a concentration of 10 % do not have a significant effect on the optical density gain of the culture.

The increase of *L*, *ML* and *MLG* extracts' content in the cultivation medium for up to 30 % is accompanied by a significant increase in the optical density gain of the culture in comparison with  $PC_{30}$  (StIs are 101.4 %, 54.3 % and 30.0 %, respectively). Introduction into the cultivation medium of *L* and *ML* extracts at a concentration of 50 % results in a significantly increase of the optical density gain of the culture compared to  $PC_{50}$  (StIs are 81.7 % and 32.7 %, respectively). *MLG* extract at 50 % content in the cultivation medium does not have a significant effect on optical density gain of culture compared to  $PC_{50}$ .

As shown in Fig. 2, cell-free extract *B* in the composition of the cultivation medium at a concentration of 10 % does not have a significant effect on the optical density gain of the culture compared to  $PC_{10}$ . An increase in the content of this extract in the composition of the cultivation medium to 30 % and 50 % leads to a significant increase of the culture optical density gain compared to the  $PC_{30}$  and  $PC_{50}$  (StIs are 19.5 % and 16.3 %, respectively). The presence of *B* extract in the cultivation medium does not affect the culture optical density gain.

At the second stage of research, the effect of cell-free extracts on biofilm formation by *L. reuteri* was studied. Optical density of the eluate enables to indirectly judge the biofilm formation by bacteria. An increase in the volume of the *PhS* replacing the nutrient medium in the control sample from 10 % to 30 % and from 10 % to 50 %, is accompanied by a decrease in the optical density of the eluate by an average of 8.9 % and 29.8 %, respectively (Fig. 3). The biofilm formation by *L. reuteri* culture at 10 %, 30 % and 50 % content of the *PhS* in the cultivation medium is defined as strong. The introduction into the cultivation medium of extract *L* at a concentration of 10 % is accompanied by a decrease in the optical density of the eluate compared with  $PC_{10}$  (InhI is 16.3 %). Extract *ML* at a concentration of 10 % does not affect the optical density of the eluate. An increase in the concentration of extracts of *L* and *ML* to 30 % in the cultivation medium is accompanied by a significant decrease of the biofilm formation by test-culture compared to  $PC_{30}$  (InhIs are 63.6 % and 51.3 %, respectively).

But, despite this, the biofilm formation of the test culture is defined as strong. An increase in the content of *L* and *ML* extracts in cultivation medium up to 50 % leads to pronounced inhibition of biofilm formation by *L. reuteri* compared to  $PC_{30}$  (InhIs are 78.0 % and 48.3 %, respectively). It should be noted that in the presence of *L* extract, biofilm

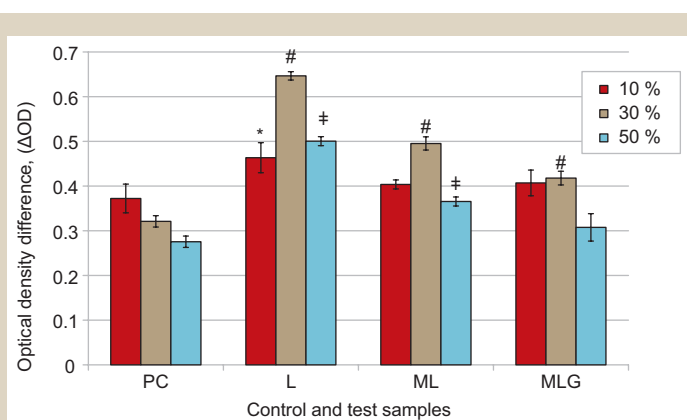


Fig. 1. The effect of cell-free extracts derived from *L. reuteri* on the proliferation of *L. reuteri* (average  $\Delta OD \pm SD$ , at 578 nm,  $n = 3$ ).

PC: positive controls ( $PC_{10}$ ;  $PC_{30}$ ;  $PC_{50}$ ); L: filtrate of *L. reuteri* disintegrate; ML: filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate; MLG: filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate supplemented with glycerol and glucose; \*: the differences are significant compared to the  $PC_{10}$ ; #: compared to the  $PC_{30}$ ; †: compared to the  $PC_{50}$ ;  $P < 0.05$ .

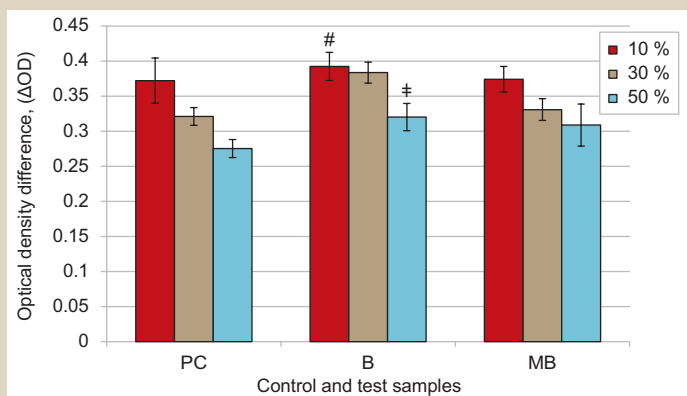


Fig. 2. The effect of cell-free extracts derived from *B. bifidum* on the proliferation of *L. reuteri* (average  $\Delta OD \pm SD$ , at 578 nm,  $n = 3$ ).

PC: positive controls ( $PC_{10}$ ;  $PC_{30}$ ;  $PC_{50}$ ); B: filtrate of *B. bifidum* disintegrate; MB: filtrate of *B. bifidum* culture, grown in *B. bifidum* disintegrate; #: the differences are significant compared to the  $PC_{30}$ ; †: compared to the  $PC_{50}$ ;  $P < 0.05$ .

formation by *L. reuteri* culture becomes moderate. *MLG* extract at 10 % and 30 % concentration in the cultivation medium significantly stimulates the biofilm formation of the test culture (StIs are 32.9 % and 25.5 %, respectively). The degree of biofilm formation by *L. reuteri* in a cultivation medium containing 50 % *MLG* extract does not differ from biofilm formation by test culture in the  $PC_{50}$ .

As can be seen from the data presented in Fig. 4, *B* and *MB* extracts significantly inhibit biofilm formation of *L. reuteri* in a dose dependent manner. Calculated InhIs of biofilm formation under the influence of introducing *B* extract into the cultivation medium at concentrations of 10 %, 30 % and 50 % are: 50.0 %, 82.9 % and 83.7 %, respectively. The InhIs after the introduction of *MB* extract into the cultivation medium at the same concentrations are: 31.0 %, 73.8 % and 73.1 %, respectively. Biofilm formation by *L. reuteri* culture in the presence of extracts *B* and *MB* in the cultivation medium at concentrations of 30 % and 50 % is defined as moderate.

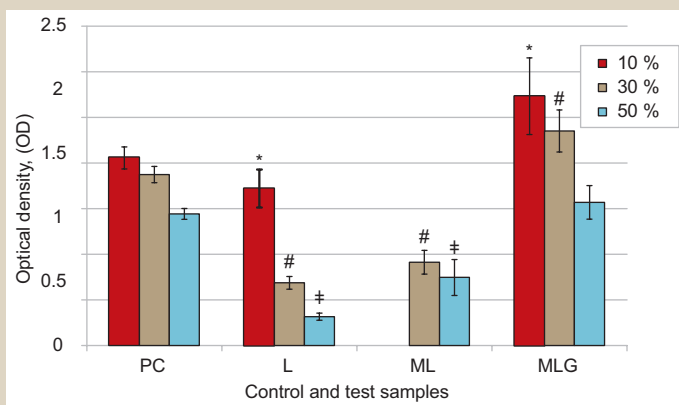


Fig. 3. The effect of cell-free extracts derived from *L. reuteri* on the biofilm formation by *L. reuteri* (average OD ± SD, at 630 nm, n = 3).

PC: positive controls ( $PC_{10}$ ;  $PC_{30}$ ;  $PC_{50}$ ); L: filtrate of *L. reuteri* disintegrate; ML: filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate; MLG: filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate supplemented with glycerol and glucose; \*: the differences are significant compared to the  $PC_{10}$ ; #: compared to the  $PC_{30}$ ; ‡: compared to the  $PC_{50}$ ,  $P < 0.05$ .

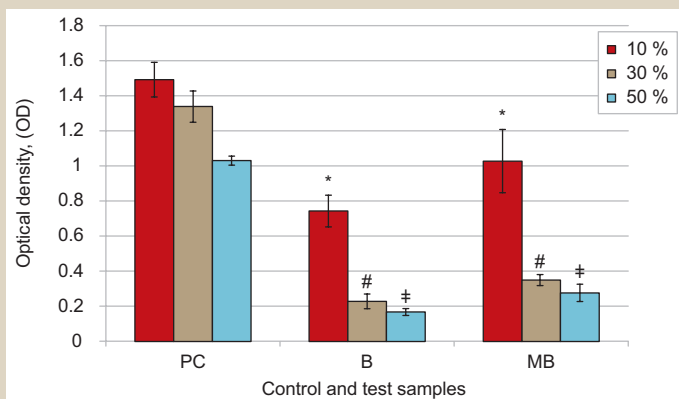


Fig. 4. The effect of cell-free extracts derived from *B. bifidum* on the biofilm formation by *L. reuteri* (average OD ± SD, at 630 nm, n = 3).

PC: positive controls ( $PC_{10}$ ;  $PC_{30}$ ;  $PC_{50}$ ); B: filtrate of *B. bifidum* disintegrate; MB: filtrate of *B. bifidum* culture, grown in *B. bifidum* disintegrate; \*: the differences are significant compared to the  $PC_{10}$ ; #: compared to the  $PC_{30}$ ; ‡: compared to the  $PC_{50}$ ,  $P < 0.05$ .

## Discussion

Summarizing the data obtained at the first stage of research, it should be noted that cell-free extracts obtained from *L. reuteri* disintegrate and culture, grown in its own disintegrate, stimulate the proliferative activity of *L. reuteri* to a much greater degree than the extract obtained from *B. bifidum* disintegrate. According to the degree of stimulatory effect on the *L. reuteri* proliferation, cell-free extracts arranged in ascending order:  $B < MLG < ML < L$ . The stimulation abilities of cell-free extracts enhance with increasing concentration in the cultivation medium from 10 % to 30 % and weaken with increasing concentration to 50 % due to the dilution effect. The most pronounced stimulatory effect on *L. reuteri* proliferation is exerted by extract L, containing disintegration products of *L. reuteri*. The less pronounced effect of ML and MLG extracts on the proliferative activity of *L. reuteri* is obviously associated with the inhibition effect of some metabolites contained in these extracts. One of these metabolites can be reuterin, produced by *L. reuteri* when

cultivated in a glycerin-containing medium. It is known that reuterin exhibits pronounced antimicrobial activity toward to representatives of many genera of bacteria, fungi and protozoa in concentrations 4–5 times lower than those that can inhibit the growth of lactic acid bacteria. It is noteworthy that among all species of the genus *Lactobacillus* *L. reuteri* produces the highest concentrations of reuterin and is most resistant to its antimicrobial activity [1]. In addition to reuterin, proliferative activity can be suppressed by lactic acid produced by lactobacilli in the process of cultivation. Lactic acid due its chelating properties can capture essential for growth elements, such as iron [17,18].

Data obtained at the second stage of research, allow us to conclude that all cell-free extracts, with the exception of MLG, inhibit biofilm formation by *L. reuteri*. According to the degree of inhibitory effect on the *L. reuteri* proliferation, cell-free extracts arranged in ascending order:  $ML < L < MB < B$ . The inhibitory and stimulatory abilities of cell-free extracts are in a concentration-dependent way. The chemical stimuli that influence the development of biofilms include nutrients and metabolites, quorum sensing molecules, and antimicrobials. According to recent studies, bacterial exposure to subinhibitory antimicrobials of many chemically different classes increases biofilm formation. This phenomenon can be considered as a quick and nonspecific way to protect the population from chemical threats. It can be explained by relying on the fundamental biomedical paradigm of hormesis, according to which small doses stimulate, and large inhibit biological parameters [19]. We assume that stimulatory effect of MLG extract on biofilm formation by *L. reuteri* is related to the content in the extract of reuterin, which has antimicrobial activity. To date, we have not established which mechanisms underlie the inhibitory effect of other extracts on the biofilm formation by *L. reuteri*. This issue is to be studied further. However, we assume the existence of at least two mechanisms of inhibition. The first mechanism is based on the ability of disintegration products, which are signal molecules, to suppress the expression of genes responsible for biofilm formation. The second mechanism is associated with the involvement of some structural components of bacteria (EPSs, proteins, for example) in non-specific interactions of cells with abiotic and biotic surfaces [18]. Supposedly, the disintegration products, which are structural components of lactic acid bacteria, can disrupt the biofilm formation by shielding cell surface adhesins and changing its physicochemical properties.

Analysis of the data suggests that the different directionality and degree of influence of the studied cell-free extracts on the basic physiological functions of *L. reuteri* are due to differences in their composition, which is pre-determined by the method of preparation and by the type of derivatives' producer. It is obvious that extracts from disintegrates, obtained by repeated freezing-thawing of a bacterial suspension, contain the structural components of bacterial cells (MAMPs, microbe-associated molecular patterns) and bacterial cold shock proteins (DAMPs, damage-associated molecular patterns). These structures possess powerful bioregulatory potential. For example, cold induced proteins have the ability to orchestrate multiple cellular processes, including proliferation and differentiation by regulation of transcription, translation, and splicing

[11,12,20]. Extracts from probiotic cultures additionally contain metabolic products of actively proliferating cells. Some substances can be catabolized by lactobacilli and serve as signaling molecules involved in the regulation of gene expression and in the quorum sensing mechanism implementation. Elucidation of the mechanism of action requires further careful study of the biochemical composition of cell-free extracts.

## Conclusions

1. The results of the study allow us to positively evaluate the prospects for the creation of new metabiotics based on probiotic derivatives.

2. Cell-free extract, obtained from *L. reuteri* culture, grown in its own disintegrated supplemented with glycerol and glucose can contribute to the survival and facilitate inoculation of the introduced probiotic in the gastrointestinal tract when used together.

3. Derivative-containing extracts with a pronounced growth-stimulating effect can be the basis for creating of means for increasing the overall productivity of probiotic cell biomass. The use of such means will increase the economic efficiency of the production of probiotic cultures.

4. Obtained data induce further study of the biochemical composition, elucidation of the mechanism of action of cell-free extracts and confirmation of their efficacy *in vivo*.

**Prospects for further research:** obtained results are of practical importance and will be used in the development of new metabiotics and means for increasing the overall productivity of cell probiotic biomass based on *B. bifidum* and *L. reuteri* derivatives.

## Acknowledgment

I would like to express my deep gratitude to my scientific advisor MD, PhD, DSc, Professor Yevhen Babich for sharing his valuable advices with me during the course of this research. I would also like to express special gratitude to my colleague, MD, PhD, leading research worker Olena Isaienko for assistance in experimental work.

## Funding

The study is a fragment of the research project of the laboratory of respiratory infections prevention, State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", "Microbiological characteristic of new structural and metabolic complexes of lacto- and bifidoprotiotics" (state registration No. 0119U100686).

**Conflicts of interest:** author has no conflict of interest to declare.  
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 05.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 25.03.2019

## Information about author:

Knysh O. V., MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Respiratory Infections Prevention, State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv. ORCID ID: 0000-0002-4105-1299

## Відомості про автора:

Книш О. В., канд. мед. наук, старший науковий співробітник лабораторії профілактики краплинних інфекцій, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

## Сведения об авторе:

Кныш О. В., канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики капельных инфекций, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

## References

- [1] Britton, R. (2017). Lactobacillus reuteri. *The Microbiota In Gastrointestinal Pathophysiology*, 89-97. doi: 10.1016/b978-0-12-804024-9.00008-2
- [2] Mu, Q., Tavella, V., & Luo, X. (2018). Role of Lactobacillus reuteri in Human Health and Diseases. *Frontiers In Microbiology*, 9. doi: 10.3389/fmicb.2018.00757
- [3] Kahouli, I., Malhotra, M., Tomaro-Duchesneau, C., Saha, S., Marinescu, D., Rodes, L. S., et al. (2015). Screening and in-vitro analysis of Lactobacillus reuteri strains for short chain fatty acids production, stability and therapeutic potentials in colorectal cancer. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*, 7(1), doi: 0.4172/jbb.1000212
- [4] Walter, J., Britton, R., & Roos, S. (2011). Host-microbial symbiosis in the vertebrate gastrointestinal tract and the Lactobacillus reuteri paradigm. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 108(Supplement 1), 4645-4652. doi: 10.1073/pnas.1000099107
- [5] Mills, J., Weinstein, P., Gellie, N., Weyrich, L., Lowe, A., & Breed, M. (2017). Urban habitat restoration provides a human health benefit through microbiome rewilding: the Microbiome Rewilding Hypothesis. *Restoration Ecology*, 25(6), 866-872. doi: 10.1111/rec.12610
- [6] Urbańska, M., & Szajewska, H. (2014). The efficacy of Lactobacillus reuteri DSM 17938 in infants and children: a review of the current evidence. *European Journal Of Pediatrics*, 173(10), 1327-1337. doi: 10.1007/s00431-014-2328-0
- [7] Slížová, M., Nemcová, R., Maďar, M., Hadravová, J., Gancarčíková, S., Popper, M., & Pistl, J. (2015). Analysis of biofilm formation by intestinal lactobacilli. *Canadian Journal Of Microbiology*, 61(6), 437-446. doi: 10.1139/cjm-2015-0007
- [8] Navarro, J., Mashburn-Warren, L., Bakaletz, L., Bailey, M., & Goodman, S. (2017). Enhanced Probiotic Potential of Lactobacillus reuteri When Delivered as a Biofilm on Dextranomer Microspheres That Contain Beneficial Cargo. *Frontiers In Microbiology*, 8. doi: 10.3389/fmicb.2017.00489
- [9] Mackos, A., Galley, J., Eubank, T., Easterling, R., Parry, N., Fox, J., et al. (2016). Social stress-enhanced severity of Citrobacter rodentium-induced colitis is CCL2-dependent and attenuated by probiotic Lactobacillus reuteri. *Mucosal Immunology*, 9(2), 515-526. doi: 10.1038/mi.2015.81
- [10] Stefania, D., Miranda, P., Diana, M., Claudia, Z., Rita, P., & Donatella, P. (2017). Antibiofilm and Antiadhesive Activities of Different Synbiotics. *Journal Of Probiotics & Health*, 5(3). doi: 10.4172/2329-8901.1000182
- [11] Shenderov, B. (2013). Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *Microbial Ecology In Health & Disease*, 24. doi: 10.3402/mehd.v24i0.20399
- [12] Singh, A., Vishwakarma, V., & Singhal, B. (2018). Metabiotics: the functional metabolic signatures of probiotics: current state-of-art and future research priorities-Metabiotics: probiotics effector molecules. *Advances In Bioscience And Biotechnology*, 9, 147-189. doi: 10.4236/abb.2018.94012
- [13] Landman, C., & Quévrain, E. (2016). Le microbiote intestinal: description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de Médecine Interne*, 37(6), 418-423. doi: 10.1016/j.revmed.2015.12.012
- [14] Sposib oderzhannia biolohichno aktyvnykh deryvativ bakterii probiotychnykh shtamiv. pat. 122859 Ukraina [Method for obtaining biologically active derivatives of probiotic strains bacteria. pat. 122859]. / Knysh, O. V., Isaienko, O. Yu., Babych, Ye. M., Polianska, V. P., Zacheplyo, S. V., Kompaniets, A. M., et al. № u201708828 ; zaivai. 04.09.17 ; opubl. 25.01.18, biul. 2. [in Ukrainian].
- [15] Stepanović, S., Vuković, D., Hala, V., Bonaventura, G., Djukić, S., Čirković, I., et al. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8), 891-899. doi: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm\_630.x
- [16] In Lee, S., Barancelli, G., de Camargo, T. M., Corassin, C. H., Rosim, R. E., da Cruz, A., et al. (2017). Biofilm-producing ability of Listeria monocytogenes isolates from Brazilian cheese processing plants. *Food Research International*, 91, 88-91. doi: 10.1016/j.foodres.2016.11.039

- [17] Tachedjian, G., Aldunate, M., Bradshaw, C., & Cone, R. (2017). The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in Microbiology*, 168(9-10), 782-792. doi: 10.1016/j.resmic.2017.04.001
- [18] Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. (2008). Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(4), 728-764. doi: 10.1128/MMBR.00017-08
- [19] Ranieri, M., Whitchurch, C., & Burrows, L. (2018). Mechanisms of biofilm stimulation by subinhibitory concentrations of antimicrobials. *Current Opinion in Microbiology*, 45, 164-169. doi: 10.1016/j.mib.2018.07.006
- [20] Lindquist, J., & Mertens, P. (2018). Cold shock proteins: from cellular mechanisms to pathophysiology and disease. *Cell Communication and Signaling*, 16(1). doi: 10.1186/s12964-018-0274-6



## Рекуррентні респіраторні захворювання у практиці сімейного лікаря та педіатра: основні питання (огляд літератури)

О. І. Лемко\*<sup>A,C,E,F</sup>, С. В. Лукашук<sup>B,C,D</sup>

ДУ «Науково-практичний медичний центр «Реабілітація» МОЗ України», м. Ужгород

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – проаналізувати фахову літературу та вивчити сучасні наукові тенденції щодо визначення, особливостей етіопатогенезу, диференційної діагностики та запобігання рекуррентним респіраторним захворюванням (РРЗ) у практиці сімейного лікаря та педіатра.

**Висновки.** Респіраторні захворювання в дитячому віці можуть відігравати неоднозначну роль, оскільки, з одного боку, вони є стимулом для захисних сил організму, з іншого, – при суттєвому збільшенні частоти та важкості перебігу можуть стати причиною вторинної імунної дисфункції. Однак конкретні критерії діагностики РРЗ відсутні. До факторів, що зумовлюють розвиток РРЗ, належать шкідливі екологічні умови, несприятливий сімейний анамнез, відсутність грудного вигодовування, наявність супутньої патології та багато інших чинників. Частина дітей із РРЗ мають відхилення в імунному статусі, зокрема зміни неспецифічного захисту та клітинного імунітету. Хоча РРЗ можуть розвиватися і на тлі відсутності відхилень за основними показниками імунограми.

Діти з РРЗ потребують особливої уваги, адже під маскою частих гострих респіраторних захворювань можуть бути приховані тяжкі, іноді невиліковні патології. Сімейний лікар і педіатр мають здійснити диференційну діагностику з atopією, первинним імунodefіцитом, гастроeзофагеальним рефлюксом, стороннім тілом бронхів, муковісцидозом, психогенним кашлем і рядом інших захворювань. Необхідно також відокремлювати дітей із хронічними вогнищами інфекції.

Для адекватного оцінювання ситуації та розробки зваженої тактики ведення таких пацієнтів необхідно ухвалити вітчизняні критерії зарахування дітей до групи з РРЗ. Лікар має забезпечити індивідуальний підхід до такого пацієнта з оптимальним обсягом використання діагностичних методів та розробленням тактики ведення і при гострих епізодах РРЗ, і поза гострим періодом із максимальним залученням немедикаментозних засобів для запобігання прогресуванню патологічного процесу.

### Ключові слова:

діти, рекуррентні респіраторні захворювання, діагностика, лікування.

### Запорізький медичний журнал.

– 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 835–842

### DOI:

10.14739/2310-1210.2019.6.186715

### \*E-mail:

o.i.lemko@gmail.com

## Рекуррентные респираторные заболевания в практике семейного врача и педиатра: главные вопросы (обзор литературы)

О. И. Лемко, С. В. Лукашук

**Цель работы** – провести анализ специализированной литературы и изучить современные научные тенденции определения, особенностей этиопатогенеза, дифференциальной диагностики и профилактики рекуррентных респираторных заболеваний (РРЗ) в практике семейного врача и педиатра.

**Выводы.** Респираторные заболевания в детском возрасте могут играть неоднозначную роль, так как, с одной стороны, являются стимулом для защитных сил организма, а с другой, – при существенном увеличении частоты и тяжести течения могут стать причиной вторичной иммунной дисфункции. Однако конкретные критерии диагностики РРЗ отсутствуют. К предрасполагающим факторам относят вредные экологические условия, неблагоприятный семейный анамнез, отсутствие грудного вскармливания, наличие сопутствующей патологии и многие другие факторы. Часть детей с РРЗ имеет отклонения в иммунном статусе, в частности изменения неспецифической защиты и клеточного иммунитета. Хотя РРЗ могут иметь место и на фоне отсутствия отклонений по основным показателям иммунограммы.

Дети с РРЗ требуют особого внимания, ведь под маской частых острых респираторных заболеваний могут протекать тяжелые, иногда неизлечимые заболевания. Семейный врач и педиатр должны провести дифференциальную диагностику с atopією, первичным иммунодефицитом, гастроeзофагеальным рефлюксом, инородным телом бронхов, муковісцидозом, психогенным кашлем и рядом других заболеваний. Необходимо также отделять детей с хроническими очагами инфекции. Для адекватной оценки ситуации и разработки взвешенной тактики ведения таких пациентов необходимо принять отечественные критерии отнесения детей к группе с РРЗ. Врач должен обеспечить индивидуальный подход к такому пациенту с оптимальным объемом применения диагностических методов и разработкой тактики ведения и при острых эпизодах РРЗ, и вне острого периода с максимальным привлечением немедикаментозных средств для предупреждения прогрессирования патологического процесса.

### Ключевые слова:

дети, респираторные заболевания, диагностика, лечение.

### Запорожский медицинский журнал.

– 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 835–842

## Recurrent respiratory diseases in practice of family physician and pediatrician: main issues (a literature review)

O. I. Lemko, S. V. Lukashchuk

**The aim of the study** – to analyze the professional literature and evaluate modern scientific trends concerning definition, peculiarities of etiopathogenesis, differential diagnosis and prevention of recurrent respiratory diseases (RRD) in the practice of family doctors and pediatricians.

**Key words:**

children, respiratory diseases, diagnosis, treatment.

Zaporozhye  
medical journal  
2019; 21 (6), 835–842

**Conclusions.** Respiratory diseases in children can play an ambiguous role, because on the one hand, they are an inducement for the host defenses, while they can cause secondary immune dysfunction in a significant increase in their incidence and severity, on the other. However, there are no specific criteria for RRD diagnosis. Contributing factors include harmful ecological conditions, unfavorable family history, absence of breastfeeding, presence of comorbid pathology and many other factors. Some children with RRD have immune dysfunctions, including changes in nonspecific protection and cellular immunity. Even if there are no changes in the main immunological indices, RRD can occur.

Children with RRD require special attention, because severe, sometimes incurable diseases can be under the mask of frequent RRD. For such children family doctor and pediatrician should conduct a differential diagnosis with atopy, primary immune deficiency, gastroesophageal reflux, bronchial foreign body, cystic fibrosis, psychogenic cough and other diseases. Children with chronic infection should also be separated.

In order to adequately assess the situation and develop a well-grounded treatment tactics for such patients, it is necessary to work out domestic criteria for assigning children to the RRD group. A physician should provide an individual approach to such a patient with optimal diagnostic methods and the development of management tactics both in acute episodes of respiratory diseases and during non-acute periods with the maximum involvement of drug-free modalities and for prevention of the pathological process progression.

Захворювання дихальної системи посідають одне з перших місць у структурі дитячої захворюваності. Тому питання гострих респіраторних захворювань (ГРЗ) і впливу їх частоти на загальний стан здоров'я дитини залишається актуальним. Навіть в умовах прогресу наукових даних і практичних знань не можна спрогнозувати перебіг ГРЗ. Наслідки патології залежать не тільки від правильного та своєчасного лікування, але й від загального стану організму дитини, на тлі якого виникло ГРЗ, зокрема від функціонального стану імунної системи, що в період дитинства ще перебуває у становленні.

### Мета роботи

Проаналізувати фахову літературу та вивчити сучасні наукові тенденції щодо визначення, особливостей етіопатогенезу, диференційної діагностики та запобігання рекурентним респіраторним захворюванням у практиці сімейного лікаря та педіатра.

З 1980-х років у практичній медицині актуальним було виокремлення в окрему групу дітей, які частіше, ніж однолітки, хворіли на ГРЗ; таких пацієнтів називали «часто хворі діти» (ЧХД). У сучасній вітчизняній клінічній медицині також користуються цим поняттям. Відзначимо, що ЧХД – це не нозологічна форма й не діагноз, а група диспансерного спостереження.

Відомо, що розрізняють кілька груп дітей за станом здоров'я. Так, I групу здоров'я становлять соматично здорові діти. До II групи здоров'я належать ЧХД: діти з обтяженим біологічним анамнезом, функціональними, морфологічними особливостями та пов'язаними з цим змінами, ризиком розвитку хронічних захворювань. Часті ГРЗ пояснюються транзиторними відхиленнями в захисних системах організму дитини (за відсутності органічних порушень), які піддаються корекції [1]. Уже саме визначення передбачає терапію певними коригувальними засобами.

Перше питання, що постає, – це критерії включення дітей у цю групу. У 1986 р. академік А. А. Баранов і професор В. Ю. Альбіцький запропонували критерії включення дітей у групу ЧХД, враховуючи частоту виникнення епізодів ГРЗ залежно від віку дитини. Згідно з критеріями, такими пацієнтами були діти віком до 1 року, якщо вони хворіли на ГРЗ 4 і більше разів на рік; віком від 1 до 3 років – при частоті ГРЗ 6 і більше разів на рік; віком від 3 до 5 років – при 5 і більше епізодах

ГРЗ на рік; дітей старше 5 років, якщо ГРЗ виникали 4 і більше разів на рік [1].

Однак, на думку деяких дослідників, оцінювання тільки частоти ГРЗ, навіть у взаємозв'язку з віком дитини, недостатнє. Так, З. С. Макарова запропонувала враховувати також важкість кожного епізоду, наявність ускладнень, супутніх хронічних захворювань носоглотки, алергічних патологій. У результаті з'явилися підгрупи: «істинно» та «умовно» часто хворі діти, – а також три клінічні типи: соматичний, оториноларингологічний і змішаний [2].

Деяко інший підхід запропонували Г. А. Самсигіна та Є. М. Вишлова (2016 р.). Вони пропонують розраховувати так званий індекс резистентності (ІР) – відношення кількості епізодів ГРЗ, що поділене на кількість місяців спостереження. Якщо дитина протягом 1,5–2,0 місяців має два епізоди ГРЗ або протягом 3 місяців – два і більше епізодів, то це є підставою розрахунку цього індексу. При значенні ІР понад 0,3 дитину вважають ЧХД і вживають заходи, що передбачені таким пацієнтам [3].

Іноземні дослідники не використовують поняття ЧХД. У сучасній фаховій літературі для визначення повторних респіраторних захворювань користуються поняттям «recurrent respiratory infections» – рецидивні, або рекурентні респіраторні інфекції (РРІ).

Відзначимо, що в Міжнародній класифікації хвороб X перегляду (МКХ-X) відсутні рецидивні респіраторні інфекції. За МКХ-10, розрізняють тільки гострі та хронічні хвороби верхніх дихальних шляхів: J00 – Гострий назофарингіт; J01 – Гострий синусит; J02 – Гострий фарингіт; J03 – Гострий тонзиліт; J04 – Гострий ларингіт та трахеїт; J05 – Гострий обструктивний ларингіт та епіглотит; J31 – Хронічний риніт, назофарингіт та фарингіт; J32 – Хронічний синусит; J35 – Хронічні хвороби мигдалин та аденоїдів; J37 – Хронічний ларингіт та ларинготрахеїт; J40 – Бронхіт, неуточнений як гострий чи хронічний. У проєкті нового перегляду МКХ-11, що нині обговорюється, ці коди залишаються без змін [4].

Велике дослідження, що виконав А. Bush, показало: в дитинстві середня кількість вірусних інфекцій становить 5 разів на рік, але понад 10 % дітей мають 10 і більше простудних захворювань. Вважають, що середня тривалість симптомів ГРЗ може становити майже 8 днів, але в будь-якому випадку не більше ніж 2 тижні. На підставі цього зроблено висновок, що нормальна дитина може мати періодичні симптоми застуди

протягом майже 6 місяців [5], тобто кількість ГРЗ може сягати до 10, однак має бути тенденція до зменшення кількості епізодів із віком. Зрозуміло також, що діти, які відвідують дитячі садки або перебувають у закритих дитячих колективах, частіше хворіють на ГРЗ.

Італійське товариство педіатрів (Gruppo di Studio di Immunologia della Società Italiana di Pediatria) запропонувало, що для діагностики рекурентних респіраторних захворювань (РРЗ) має бути принаймні один із таких критеріїв: 6 або більше респіраторних інфекцій на рік, одна чи більше респіраторних інфекцій на місяць із залученням верхніх дихальних шляхів від вересня до квітня, 3 або більше респіраторних інфекцій на рік із залученням нижніх дихальних шляхів [6,7].

Значно вищі критерії пропонують педіатри інших країн. Так, на думку вчених Китаю, для підтвердження РРЗ достатньо щонайменше два епізоди інфекцій нижніх дихальних шляхів протягом року [8]. Інші науковці до дітей із РРЗ зараховують тих, які мали 5 і більше епізодів гострого середнього отиту, 3 і більше епізоди синуситу та/або 2 пневмонії на рік [9].

Пропонують також вважати рекурентними респіраторними інфекціями (без чіткої ідентифікації) такі, що трапляються 8 і більше разів на рік, для дітей віком до 3 років; 6 і більше інфекцій на рік – для дітей віком понад 3 роки [10]. Деякі автори як РРІ визначають 10–12 епізодів на рік, переважно в період з вересня до квітня, що різко збільшує кількість пропущених занять у школі [11]. Однак інші роботи засвідчують, що така кількість характерна і для здорових дітей, які відвідують садок чи школу [12].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), дитина віком до 5 років може щорічно мати від 4 до 6 епізодів респіраторних інфекцій. Найбільша кількість ГРЗ припадає на вік 6–18 місяців і 5–7 років, що може бути пов'язано з розширенням контактів між дітьми та особливостями дитячої імунної системи [13,14].

Отже, пропозиції практичних лікарів і дослідників щодо частоти, характеру нозологічних форм, які слід вважати підставами для визначення дитини у групу ЧХД або РРЗ, суттєво відрізняються в різних країнах. Це зумовлює нагальність ухвалення вітчизняних критеріїв щодо цього питання. Без такого рішення неможливо порівнювати роботи різних дослідників, ефективність лікування та визначити єдину тактику ведення пацієнтів.

Дуже важливе питання – взаємозв'язок повторних ГРЗ із певною хронічною патологією, зокрема тонзилітом та аденоїдитом. Наукові літературні дані показують, що 50 % обстежених, котрі перенесли 8–9 епізодів ГРЗ на рік, мали хронічні вогнища інфекції верхніх дихальних шляхів, а при кількості ГРЗ 10 і більше – у 100 % обстежених наявні хронічні вогнища інфекції. Такі діти потребують іншої тактики, зокрема адекватної антибактеріальної терапії, що сприяє зменшенню частоти ГРЗ шляхом санації хронічних вогнищ інфекції [14].

Не менш важливим є оцінювання біологічної ролі ГРЗ у розвитку дитини. На ХІХ Міжнародному конгресі педіатрів задекларовано, що декілька перенесених гострих ринофарингітів стимулюють захист організму, тому позитивно впливають на стан імунітету [15]. Деякі автори вважають, що тренувати імунну систему допомагають також епізоди риніту, назофарингіту та навіть

бронхіту [13]. При цьому можливі біль у вухах, хрипи та/або утруднене дихання, субфебрильна температура. Повторні епізоди можуть тривати від 2–3 днів і більше та повторюватись не частіше, ніж через 2 тижні, впродовж яких немає симптомів [10]. Крім того, влітку ГРЗ майже не буває, загальний стан між загостреннями задовільний, а скарги відсутні [13].

Однак, крім певного позитивного впливу, що пов'язаний зі стимуляцією імунного захисту організму, часті ГРЗ можуть мати й небажані наслідки. Дані наукової літератури вказують, що діти з РРЗ (6–8 ГРЗ за рік) мають відмінності за станом здоров'я порівняно з дітьми, які мають менше таких епізодів. Зокрема, в них частіше спостерігають ускладнення, що потребують стаціонарного лікування. Рівень госпіталізації залежить від сезону, віку дитини [16].

Крім того, діти з РРЗ частіше мають хронічні вогнища інфекції, анемії, алергічні реакції тощо [17]. У 80 % дітей, які перенесли понад 8 ГРЗ на рік, спостерігали синдром хронічної втоми, майже в половині – лімфаденопатію, у 12 % визначили алергічну респіраторну патологію [18]. У 25 % ЧХД виявлені повторні бронхообструкції [14]. Цікаво, що серед хворих на цукровий діабет інфекції верхніх дихальних шляхів реєстрували з такою самою частотою, як у дітей без порушень вуглеводного обміну. Однак пацієнти з діабетом мали більший ризик інфекції нижніх дихальних шляхів [19].

Певну увагу приділяли також питанням етіологічних факторів та особливостям патогенезу повторних ГРЗ. Відомо, що основна причина ГРЗ – вірусна інфекція, але тригерними факторами РРЗ можуть бути й чимало інших чинників. Так, збільшення частоти ГРЗ зумовлюють несприятлива екологічна ситуація, негативні фактори довкілля, зокрема сигаретний дим, особливо паління батьків на першому році життя дитини [11,20]. Несприятливими факторами також є низький рівень матеріального забезпечення родини, погані житлові умови, котрі вірогідно пов'язані з розвитком значущої затримки постнатального фізичного розвитку [21]. Важливими чинниками ризику є гестози вагітності та носійство TORCH-інфекцій матерів, передчасні пологи, пологи шляхом кесаревого розтину, алергічні захворювання родичів [17], а також низька вага при народженні, відсутність грудного вигодовування [11], погане харчування дитини, наявність супутньої патології, зокрема рахіту, астми, а також знижений вміст заліза у крові та високий рівень лужної фосфатази [8]. Умовами, що провокують повторне ГРЗ, вважають також ранню соціалізацію дитини та туристичні поїздки до 3-річного віку [3].

У більшості таких дітей виявили латентні внутрішньоклітинні інфекції, зокрема вірус герпесу, вірус Епштейна-Барр, цитомегаловірус, хламідії, мікоплазми. Навіть у період відносного клінічного благополуччя з фарингеального ексудату виділяють низку патогенних та умовнопатогенних мікроорганізмів, найчастіше – стафілококи, стрептококи, мораксели, ешерихії та кандиди [22]. Майже у 50 % таких дітей виділили патогенні штами бактерій [14]. Під час повторних ГРЗ відбувається активація латентних і персистуючих інфекцій вірусного, бактеріального та грибового походження. Це посилює імунні порушення та зумовлює хронізацію процесу.

Провідним патогенетичним фактором, який забезпечує реалізацію етіологічних і сприятливих чинників, є стан імунної системи дитини. Важливу роль відіграють порушення саме мукозального імунітету, в тому числі шлунково-кишкового тракту, та мікробіоти. У дітей із РРІ встановили зниження рівнів IgA у слині, дисбіоз верхніх відділів дихальних шляхів поряд зі зниженням рівня вітаміну D і значущим мікробно-вірусним навантаженням [18,23].

У таких дітей реєструють зниження поглинальних властивостей нейтрофілів і моноцитів [24]. Зменшення кількості та порушення функціональної активності нейтрофілів виявили в 50 % дітей із РРІ [7]. Спостерігають також порушення функціонування природних кілерів (CD16<sup>+</sup>-клітин), зменшення кількості CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>-лейкоцитів, зниження співвідношення CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-клітин, збільшення числа CD25<sup>+</sup>-лімфоцитів тощо [7,18,24].

Деякі автори вказують на зменшення рівнів IgM, IgA, IgG, наявність дефектів утворення постінфекційних специфічних антитіл [6].

Поряд з тим є роботи, в яких автори вказують, що основні імунологічні показники в дітей із РРЗ є нормальними більш ніж у половини обстежених, а в інших дітей їхні значення можуть бути як підвищеними, так і зниженими [7].

Опубліковано дослідження, що свідчать про відсутність різниці показників фагоцитозу, клітинного та гуморального імунітету між групами дітей, які мали 6–12 РРЗ на рік, та особами із менше ніж 5 такими епізодами. Крім того, майже в половині таких дітей обох груп імунологічні показники не змінені [15].

Отже, аналіз сучасних наукових літературних даних вказує на відсутність одностайної думки як щодо критеріїв оцінювання частоти рекурентних респіраторних патологій, так і щодо етіопатогенетичних механізмів РРЗ і біологічної ролі гострих респіраторних інфекцій у розвитку дитини. Однак знання цих аспектів необхідне для розрізнення фізіологічних РРЗ, що сприяють «навчання» імунітету, та для того, щоб виключити патологічні стани, що мають перебіг із симптоматикою частих респіраторних інфекцій.

Дитина, яка має РРІ, становить одну з найскладніших діагностичних проблем у педіатрії. Тому важливим завданням для лікаря є диференційна діагностика для виключення іншої патології, яка має перебіг, схожий на РРІ, і для мінімізації частоти повторних інфекцій, запобігання негативним наслідкам, особливо в умовах зростання антибіотикорезистентності та алергізації [10,25].

РРЗ слід диференціювати з atopією, імунодефіцитом, спадковими та вродженими захворюваннями легень. Необхідно також розпізнати аномалії стравоходу, гастроєзофагальну рефлюксну хворобу, можливі глистні інвазії. У дітей дошкільного віку можливі муковісцидоз, стороннє тіло бронхів, а в пацієнтів шкільного віку – психогенний кашель [10,13,26]. Крім того, тривалий кашель може бути спричинений кашлюком і пневмоніями, що викликані атипичними збудниками (хламідії, мікоплазми) та грибами (аспергіли) [13]. Важливо знати, що епізоди РРЗ, найчастіше синусити, отити, бронхіти, можуть супроводжуватися кашлем, який триває понад 6–8 тижнів [26].

Для діагностики РРІ необхідно оцінити перебіг інфекцій: зміну загального стану, тривалість, наявність супутньої патології, ефективність симптоматичної терапії, відповідь на емпіричне лікування антибіотиками, наявність повного одужання між епізодами хвороби [6, 15].

Імунодефіцит слід припускати за наявності 8 і більше епізодів гострого середнього отиту протягом року, 2 або більше епізодів пневмонії, 2 або більше тяжких інфекцій в анамнезі (менінгіт, остеомієліт, септицемія), стійкого орального або шкірного кандидозу, використання антибіотиків без ефекту протягом 2 і більше місяців [5], а також коли дитина не здатна набирати вагу або нормально рости, наявні хронічна діарея та сімейний анамнез імунодефіциту [6]. Встановлення діагнозу об'язково потребує консультації дитячого імунолога, здійснення імунологічного обстеження, що включає визначення неспецифічних факторів захисту, зокрема процесів фагоцитозу, кількості лімфоцитів та їхніх субпопуляцій, рівнів імуноглобулінів [12,27]. Варто не забувати про призначення загального аналізу крові, особливо в динаміці, бактеріологічного дослідження та про діагностику гельмінтозів [28].

Необхідно пам'ятати, що в дітей віком до 2 років певний імунодефіцит вважають перехідним явищем, а В-клітинний імунодефіцит може зберігатися навіть до 16 років і минає без спеціального лікування [9].

Цікаве дослідження здійснили науковці з Туреччини, які виконали ретроспективний аналіз 507 дітей віком від декількох місяців до 18 років, які відповідали попереднім критеріям щодо припущення наявності імунодефіциту. Встановили, що приблизно в половині дітей не було серйозних відхилень функціонування імунної системи. У 10 % обстежених встановили первинний імунодефіцит; це пацієнти передусім із серйозними бактеріальними інфекціями в анамнезі та ті, які потребували призначення парентеральних антибіотиків [12]. До подібного висновку дійшли також А. Macchi et al. (2018), які не виявили імунодефіцит у дітей віком до 12 років навіть за наявності 10–12 епізодів РРЗ на рік [11].

Однак не варто недооцінювати можливість первинного імунодефіциту. Так, інфекції ЛОР-органів і дихальних шляхів, які рецидивують, можна спостерігати за умови порушення В-клітинного імунітету, опортуністична інфекція характерна для дефектів Т-лімфоцитів, рецидивні стафілококові та грибові інфекції притаманні дефектам фагоцитарних клітин. Такі діти мають тривалі пропуски занять у школі, часто в анамнезі відзначають чергування легкого перебігу захворювання з епізодами тяжчої інфекції (пневмонія, септицемія, остеомієліт або менінгіт), що потребують госпіталізації. Відомо, що РРЗ можна спостерігати протягом тривалого часу (до 7 років), перш ніж буде встановлений правильний діагноз. Це спричиняє розвиток незворотних змін в організмі, котрі можуть бути підґрунтям для інвалідизації хворого [28].

Часті РРЗ можуть бути наслідком вторинних імунодефіцитів, тому в низці випадків для уточнення діагнозу пацієнтам рекомендований тест на ВІЛ. У закордонній науковій літературі висвітлюють питання про низьку відповідь на вакцинацію у зв'язку з недостатнім виробленням відповідних захисних антитіл [5]. Так, науковці виявили, що 10 % немовлят недостатньо реагують на більшість рутинних вакцинацій через зміну вроджених та адаптивних імунних реакцій [29].

Заслуговує на увагу диференційна діагностика РРЗ із бронхіальною астмою. Респіраторні інфекції, що найчастіше викликані риновірусом, можуть спровокувати бронхообструктивний синдром переважно внаслідок накопичення слизу в нижніх дихальних шляхах [30]. Такі прояви особливо характерні для дітей раннього віку на тлі генетичної схильності та в умовах несприятливих зовнішніх факторів [31–33]. Комбінація індукованого вірусом wheezing-синдрому та atopії передбачає високу ймовірність розвитку бронхіальної астми. Однак питання про те, чи можуть часті вірусні інфекції бути основою для розвитку бронхіальної астми, не має однозначної відповіді [32]. Визначили залежність між проявами бронхообструктивного синдрому та перебудовою організму у процесі дозрівання імунної та, можливо, інших систем організму. Дослідження показали, що 60 % дітей, які мали бронхообструктивний синдром до 6-річного віку, після 6 років більше не відчували його. З іншого боку, продемонстровано, що більшість (52–72 %) дітей із діагнозом бронхіальна астма, які мали її симптоми в шестирічному віці, відзначатимуть прояви захворювання й у 22 роки [30].

Слід пам'ятати, що хронічний ізольований кашель рідко зумовлений астмою, і його не слід лікувати як таку патологію. Кашель як варіант астми зазвичай є діагнозом-винятком [5]. Аби диференціювати астму, необхідно зібрати анамнез, де пацієнти або їхні батьки вказують на повторні епізоди дихання зі свистом, кашлю, задишки, що, як правило, відбуваються вночі або вранці, майже завжди відзначають наявність алергічних захворювань у сімейному анамнезі. Обов'язково оцінюють респіраторні функції за допомогою спірографії з визначенням реактивності та зворотності обструкції під впливом  $\beta_2$ -агоністів. На запалення дихальних шляхів вказують еозинофілі, мастоцити (базофілі), підвищений загальний рівень імуноглобуліну Е (IgE) в сироватці. Здебільшого дитяча астма пов'язана з atopічною сенсibiliзацією, тому в таких пацієнтів часто рееструють підвищений специфічний IgE та підвищені рівні антитіл до кліщів домашнього пилу. Для дітей віком до 3 років перевагу слід надавати обстеженню на загальний IgE і специфічні IgE-антитіла, а віком понад 3 роки – шкірним тестам [3,30,34]. Найточнішим методом нині є молекулярна алергодіагностика.

Лікуючи дітей молодшого віку, не слід забувати про муковісцидоз, що має перебіг із ураженням здебільшого дихальної та травної систем. Основне дослідження для його підтвердження – потовий тест (підвищення вмісту хлоридів поту) або визначення генотипу (наявності мутацій) [5].

Рентгенологічне дослідження допоможе виключити туберкульоз, наявність бронхоектазів чи аномалій розвитку бронхів [30]. Серед аномалій бронхолегеневої системи, що має перебіг із клінікою РРЗ, найчастіше визначають синдром Картагенера (Primary Ciliary Dyskinesia), генетичний розлад, коли порушується функція війчастого епітелію, що призводить до порушення мукоциліарного кліренсу, виникнення бронхоектазів і може супроводжуватися аномально розташованими внутрішніми органами; синдром Мунье–Куна (трахеобронхомегалія, дискінезія мембранозної частини трахеї); синдром Вільямса–Кемпбе-

лла (врожене недорозвинення хрящів та еластичної тканини середніх бронхів). Крім рентгенографії грудної клітки в одній або двох проєкціях, нерідко призначають комп'ютерну томографію. Для диференційної діагностики важливо, що аномалії бронхолегеневої системи супроводжуються тривалим або хронічним, частіше вологим, кашлем, що не характерний для ЧХД, оскільки між повторними ГРЗ у таких пацієнтів подібний симптом не визначають [3,5].

За наявності стороннього тіла в дихальних шляхах зазвичай виникає раптовий вибух кашлю, але можливий кашель, що триває протягом декількох тижнів і навіть місяців. Рентгенологічно можна підтвердити цю патологію тільки тоді, коли стороннє тіло є рентгенконтрастним. В інших випадках призначають бронхоскопію [26].

Респіраторні розлади можуть співіснувати також із гастроєзофагеальним рефлюксом. Зв'язок між ними можна довести за допомогою рН-метрії. Кашель, що вираженіший у нічний час, може бути пов'язаний із відрижкою або регургітацією. Причинами тривалого кашлю може бути кислий або слабокислий рефлюкс у дітей навіть шкільного віку [35]. Але дослідження показали, що в більшості пацієнтів із частим кашлем (83,9 %) рефлюкс не виявлено [36].

Не слід забувати про анатомічні аномалії стравоходу, зокрема грижі, які можуть бути виявлені за допомогою рентгенконтрастного або ендоскопічного обстеження.

Важливо наголосити, що кашель також може бути симптомом деяких гельмінтозів і бути побічною дією від приймання певних медикаментозних засобів.

Отже, питання диференційної діагностики при РРЗ водночас та їхніх критеріїв є центральним у тактиці ведення пацієнтів. Диференційний діагноз потребує широкого кола знань у практичного лікаря, важлива роль належить об'єктивному обстеженню, особливо в динаміці [37]. Найважливіше завдання сучасного лікаря – виявлення дітей, які потребують додаткового обстеження для розпізнання тяжкої патології, виявлення хронічного вогнища інфекції, недопущення поліпрагмазії, навчання батьків забезпечувати адекватний догляд та створювати оптимальні умови для дитини, враховуючи особливості кожної конкретної патології.

Сучасні підходи обов'язково включають заохочення грудного вигодовування, сприяння поширенню вакцинації, зокрема проти грипу та інших вірусів серед дітей молодшого віку та вагітних жінок. Слід уникати також впливу негативних факторів довкілля, зокрема тютюнового диму та забрудненого повітря [8,13,16].

Лікування має бути спрямоване як на етіологічний фактор, так і на використання адекватного лікувального комплексу для запобігання рецидивам інфекції [25,38]. Антибіотики треба застосовувати тільки в разі клінічного чи бактеріологічного підтвердження бактеріальної інфекції. Використовують також препарати, що мають протівірусну дію [22,25].

Для зменшення частоти та тривалості ГРЗ рекомендують призначати препарати, що нормалізують місцевий захист, збалансовують мікробіоту кишечника, мають антиоксидантну дію, забезпечують імунокорегувальний вплив тощо [22,37–39]. Деякі автори рекомендують вітаміни, але суперечливими є відомості щодо їх оптимальних доз і концентрацій у сироватці [23,40].

Враховуючи рецидивний перебіг захворювання, різноманітні патогенетичні механізми, що лежать в їхній основі, та великі резервні можливості дитячого організму, необхідно використовувати також немедикаментозні методи лікувального впливу, хоча таких повідомлень мало. Зокрема, є праці, що вказують на імуномодулювальний вплив інгаляцій мінеральними водами та швидке відновлення функцій дихальної системи під впливом лікувальної фізкультури [41,42].

Особливу увагу необхідно звернути на використання аерозольних середовищ кам'яної солі з певними характеристиками концентрації та дисперсності (галоаерозольтерапії). Галоаерозольтерапія дає змогу нормалізувати дренажну функцію бронхів, має сануючу, протинабрякову та муколітичну дію, що сприяє поліпшенню місцевого захисту та відновленню імунної реактивності [43].

## Висновки

1. Респіраторні захворювання в дитячому віці можуть відігравати неоднозначну роль у розвитку дитячого організму, оскільки, з одного боку, вони є стимулом для захисних сил організму, з іншого – при суттєвому збільшенні частоти і важкості перебігу можуть стати причиною вторинної імунної дисфункції та основою для розвитку хронічних захворювань у дорослому віці.

2. Враховуючи різноманітність підходів з оцінювання частоти РРЗ і характеру захворювань, які є підставою для формування диспансерної групи ЧХД, необхідно ухвалити вітчизняні критерії щодо цього питання.

3. Діти з РРЗ потребують здійснення диференціальної діагностики для виключення інших важких патологій, зокрема первинних імунодефіцитів, які можуть мати перебіг, схожий на часті РРЗ.

4. Ведення пацієнтів із РРЗ потребує комплексного підходу, враховуючи можливі тригерні фактори у кожній конкретній дитині та з широким залученням немедикаментозних засобів, особливо поза гострим періодом.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у розробленні чітких критеріїв для зарахування дітей у групу з РРЗ, можливе виділення клініко-патогенетичних варіантів перебігу (з наявними порушеннями імунної системи та без них тощо) з розробленням алгоритму діагностики та принципів ведення таких дітей.

## Фінансування

Робота виконана в рамках комплексної науково-дослідної роботи ДУ «Науково-практичний медичний центр «Реабілітація» МОЗ України» «Розробка методик диференційованої комплексної імунореабілітації дітей з рецидивуючими бронхітами та часто хворіючих дітей на основі галоаерозольтерапії», № держреєстрації 0114U001380.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 27.03.2019

Після доопрацювання / Revised: 19.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 24.04.2019

## Відомості про авторів:

Лемко О. І., д-р мед. наук, професор, головний науковий співробітник ДУ «Науково-практичний медичний центр «Реабілітація» МОЗ України», м. Ужгород.

ORCID ID: 0000-0001-7668-9498

Лукашук С. В., канд. мед. наук, науковий співробітник, ДУ «Науково-практичний медичний центр «Реабілітація» МОЗ України», м. Ужгород.

ORCID ID 0000-0002-7797-938X

## Сведения об авторах:

Лемко О. И., д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник ГУ «Научно-практический медицинский центр «Реабилитация» МЗ Украины», г. Ужгород.

Лукашук С. В., канд. мед. наук, научный сотрудник, ГУ «Научно-практический медицинский центр «Реабилитация» МЗ Украины», г. Ужгород.

## Information about authors:

Lemko O. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head Researcher, SI «Scientific-practical Medical Centre «Rehabilitation» Health Ministry of Ukraine», Uzhhorod.

Lukashchuk S. V., MD, PhD, Researcher, SI «Scientific-practical Medical Centre «Rehabilitation» Health Ministry of Ukraine», Uzhhorod.

## Список літератури

- [1] Альбицкий В. Ю., Баранов А. А. Часто болеющие дети. Клинико-социальные аспекты. Пути оздоровления. Саратов, 1986. 165 с.
- [2] Макарова З. Состояние здоровья и основные направления оздоровления часто болеющих детей. *Дошкольное воспитание*. 2016. № 9. С. 63-69.
- [3] Самсыгина Г. А., Выжлова Е. Н. Еще раз о проблемах понятия «часто болеющие дети». *Педиатрия*. 2016. Т. 95. № 4. С. 209-215.
- [4] World Health Organization. Classifications. URL : <https://www.who.int/classifications/icd/en/>
- [5] Bush, A. Recurrent respiratory infections. *Pediatric Clinics Of North America*. 2009. Vol. 56. Issue 1. P. 67-100. doi: 10.1016/j.pcl.2008.10.004
- [6] Recurrent Respiratory Infections in Children – Definition, Diagnostic Approach, Treatment and Prevention / M. Jesenak et al. *Bronchitis*. 2011. URL : <https://www.intechopen.com/books/bronchitis/recurrent-respiratory-infections-in-children-definition-diagnostic-approach-treatment-and-prevention>. doi: 10.5772/19422
- [7] Recurrent respiratory tract infections in children – analysis of immunological examinations / A. Raniszewska et al. *Central European Journal Of Immunology*. 2015. Vol. 40. Issue 2. P. 167-173. doi: 10.5114/cej.2015.52830
- [8] Risk factors for recurrent respiratory infections in preschool children in china / L. Hai-Feng, Z. Yan, J. Pei-Gang, J. Hong-Xing. *Iranian Journal of Pediatrics*. 2014. Vol. 24. Issue 1. P. 14-22.
- [9] Specific antibody deficiency in children with recurrent respiratory infections: a controlled study with follow-up / O. Ruuskanen et al. *Clinical & Experimental Immunology*. 2013. Vol. 172. Issue 2. P. 238-244. doi: 10.1111/cei.12053
- [10] Schaad U., Esposito S., Razi C. Diagnosis and Management of Recurrent Respiratory Tract Infections in Children: A Practical Guide. *Archives Of Pediatric Infectious Diseases*. 2015. Vol. 4. Issue 1. P. e31039. doi: 10.5812/pedinf.31039
- [11] The role of immunomodulation therapy in preventing recurrent respiratory infections in children / A. Macchi et al. *ResearchGate*. 2018. URL : [https://www.researchgate.net/publication/323079575\\_The\\_role\\_of\\_immunomodulation\\_therapy\\_in\\_preventing\\_recurrent\\_respiratory\\_infections\\_in\\_children](https://www.researchgate.net/publication/323079575_The_role_of_immunomodulation_therapy_in_preventing_recurrent_respiratory_infections_in_children)
- [12] Recognizing immunodeficiency in children with recurrent infections: what are the predictive factors? / M. Sütçü et al. *The Turkish Journal Of Pediatrics*. 2016. Vol. 58. Issue 6. P. 609-615. doi: 10.24953/turkped.2016.06.006
- [13] Pediatric recurrent respiratory tract infections: when and how to explore the immune system? (About 53 cases) / M. El-Azami-El-Idrissi et al. *Pan African Medical Journal*. 2016. Vol. 24. P. 53. doi: 10.11604/pamj.2016.24.53.3481
- [14] Значення антибактеріальної терапії у лікуванні дітей з рецидивними інфекціями верхніх дихальних шляхів / А. О. Руденко та ін. *Современная педиатрия*. 2015. Т. 7. № 71. С. 80-85. doi: 10.15574/sp.2015.71.80
- [15] Чернишова Л.І. Рекуррентні респіраторні захворювання у дітей: алгоритм дій лікаря (лекція). *Современная педиатрия*. 2018. № 3(91). С. 92-97. doi: 10.15574/sp.2018.91.92

- [16] Global Role and Burden of Influenza in Pediatric Respiratory Hospitalizations, 1982-2012: A Systematic Analysis / K. Lafond et al. *PLOS Medicine*. 2016. Vol. 13. Issue 3. P. e1001977. doi: 10.1371/journal.pmed.1001977
- [17] Левчин А. М. Клінічна характеристика дітей 1-5 років із рекурентними респіраторними інфекціями. *Український медичний альманах*. 2013. Т. 16. № 1. С. 26-28.
- [18] Дослідження регуляторних імунних механізмів та можливостей їх корекції у дітей, що часто хворіють / В. В. Чоп'як та ін. *Современная педиатрия*. 2015. № 3(67). С. 80-87. doi: 10.15574/SP.2015.67.85
- [19] Risk of Infection in Type 1 and Type 2 Diabetes Compared With the General Population: A Matched Cohort Study / I. Carey et al. *Diabetes Care*. 2018. Vol. 41. Issue 3. P. 513-521. doi: 10.2337/dc17-2131
- [20] Effect of maternal cigarette smoking on newborn iron stores / Pateva I.B. et al. *Clinical Research And Trials*. 2015. Vol. 1. Issue 1. P. 4-7.
- [21] Козакевич О. Б. Фізичний розвиток вкрай недоношених дітей упродовж перших трьох років життя та фактори ризику, що впливають на його значну затримку. *Современная педиатрия*. 2016. № 4(76). С. 36-39. doi: 10.15574/SP.2016.76.36
- [22] Муквіч О. М., Камінська Т. М. Превентивна та лікувальна ефективність біофлавоноїдів у дітей з рекурентними респіраторними інфекціями. *Здоров'я дитини*. 2017. Т. 12. № 2. С. 124-129. doi: 10.22141/2224-0551.12.2.2017.99767
- [23] Vitamin D supplementation to patients with frequent respiratory tract infections: a post hoc analysis of a randomized and placebo-controlled trial / P. Bergman, A. Norlin, S. Hansen, L. Björkhem-Bergman. *BMC Research Notes*. 2015. Vol. 8. P. 391. doi: 10.1186/s13104-015-1378-3
- [24] Вплив відновлювального лікування на імунний статус дітей із рекурентними респіраторними захворюваннями / О. І. Лемко, С. В. Лукашук, Н. В. Вантюх, М. І. Попадинець. *Здоров'я дитини*. 2017. Т. 12. № 7. С. 773-779. doi: 10.22141/2224-0551.12.7.2017.116182
- [25] Юрочко Ф. Рецидивуючі респіраторні інфекції у дітей. *Современная педиатрия*. 2013. № 5(53). С. 91-96.
- [26] Про створення та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги в системі Міністерства охорони здоров'я України : наказ МОЗ України від 28.09.2012 р. № 751. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z2001-12>.
- [27] Laboratory clues to immunodeficiency; missed chances for early diagnosis? / P. Bright et al. *Journal Of Clinical Pathology*. 2014. Vol. 68. Issue 1. P. 1-5. doi: 10.1136/jclinpath-2014-202618
- [28] Lear S., Condliffe A. Respiratory infection and primary immune deficiency – what does the general physician need to know? *The Journal Of The Royal College Of Physicians Of Edinburgh*. 2014. Vol. 44. Issue 2. P. 149-155. doi: 10.4997/jrcpe.2014.214
- [29] Prospective study of the innate cellular immune response in low vaccine responder children / N. Surendran et al. *Innate Immunity*. 2016. Vol. 23. Issue 1. P. 89-96. doi: 10.1177/1753425916678471
- [30] Japanese guidelines for childhood asthma 2017 / H. Arakawa et al. *Allergology International*. 2017. Vol. 66. Issue 2. P. 190-204. doi: 10.1016/j.allit.2016.11.003
- [31] Regional, age and respiratory-secretion-specific prevalence of respiratory viruses associated with asthma exacerbation: a literature review / X. Zheng, Y. Xu, W. Guan, L. Lin. *Archives Of Virology*. 2018. Vol. 163. Issue 4. P. 845-853. doi: 10.1007/s00705-017-3700-y
- [32] Jartti T., Gern J. Role of viral infections in the development and exacerbation of asthma in children. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology*. 2017. Vol. 140. Issue 4. P. 895-906. doi: 10.1016/j.jaci.2017.08.003
- [33] Garcia-Garcia M., Calvo Rey C., del Rosal Rabes T. Asma y virus en el niño. *Archivos De Bronconeumología*. 2016. Vol. 52. Issue 5. P. 269-273. doi: 10.1016/j.arbres.2015.11.008
- [34] Бронхіальна астма у дітей: нові клінічні рекомендації / В. Г. Майданик, Л. В. Беш, О. К. Колоскова, О. І. Сміян. *Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*. 2018. Т. 12. № 1. С. 28-42.
- [35] Airway inflammation and injury in children with prevalent weakly acidic gastroesophageal refluxes / O. Sacco et al. *Respiratory Medicine*. 2018. Vol. 143. P. 42-47. doi: 10.1016/j.rmed.2018.08.011
- [36] Gastro-Esophageal Reflux in Children / A. Rybak, M. Pesce, N. Thapar, O. Borrelli. *International Journal Of Molecular Sciences*. 2017. Vol. 18. Issue 8. P. 1671. doi: 10.3390/ijms18081671
- [37] Борисова Т. П., Бадюгина Л. П., Федько Т. В. Рекуррентные респираторные инфекции в педиатрической практике: эффективность применения инозина пранобекса. *Здоровье ребенка*. 2018. Т. 13. № 7. С. 674-680. doi: 10.22141/2224-0551.13.7.2018.148921
- [38] Лукашук С. В., Лемко О. І. Принципи ведення дітей із частими та рецидивними захворюваннями дихальних шляхів (огляд літератури). *Сучасна педіатрія*. 2016. № 7(79). С. 48-52. doi: 10.15574/SP.2016.79.48
- [39] Марушко Т. В., Асонов А. О. Особливості місцевої терапії гострих запальних захворювань ротоглотки у дітей. *Современная педиатрия*. 2018. № 3(91). С. 98-101. doi: 10.15574/SP.2018.91.98
- [40] Vitamin D supplementation to prevent asthma exacerbations: a systematic review and meta-analysis of individual participant data / D. Jolliffe et al. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2017. Vol. 5. Issue 11. P. 881-890. doi: 10.1016/s2213-2600(17)30306-5
- [41] Radon-enriched hot spring water therapy for upper and lower respiratory tract inflammation / D. Passali et al. *Otolaryngologia Polska*. 2017. Vol. 71. Issue 4. P. 8-13. doi: 10.5604/01.3001.0010.2242
- [42] Пешкова О. В. Лікувальна фізична культура як засіб профілактики для дітей, які часто хворіють на гострі респіраторні захворювання. *Слобожанський науково-спортивний вісник*. 2015. № 2(46). С. 154-160. doi: <https://doi.org/10.15391/sns.v.2015-2.030>
- [43] Лемко О. І., Лемко І. С. Спелеотерапія, галотерапія, галоаерозольотерапія: дефініції, механізми впливу, перспективи використання (частина II). *Астма та алергія*. 2018. № 3. С. 34-41. doi: 10.31655/2307-3373-2018-3-34-41

## References

- [1] Albickij, V. Ju., Baranov, A. A. (1986). *Chasto bolejuhhie deti. Kliniko-socialnye aspekty. Puti ozdorovlenija [Children who are frequently ill. Clinical and social aspects. Recovery ways]*. Saratov. [in Russian].
- [2] Makarova, Z. (2016). Sostojanie zdorovja i osnovnye napravlenija ozdorovlenija chasto bolejuhhih detej [Health status and the main directions of improvement of often ill children]. *Preschool education*, 9, 63-69. [in Russian].
- [3] Samsygina, G. A., Vyzhlova, E. N. (2016). Eshhe raz o problemah ponjatija «chasto bolejuhhie deti» [Once again about the problems of «frequently ill children» notion]. *Pediatrics*, 95(4), 209-215. [in Russian].
- [4] World Health Organization. *Classifications*. Retrieved from <https://www.who.int/classifications/icd/en/>
- [5] Bush, A. (2009). Recurrent respiratory infections. *Pediatric Clinics Of North America*, 56(1), 67-100. doi: 10.1016/j.pcl.2008.10.004
- [6] Jesenak, M., Ciljakova, M., Rennerova, Z., Babuskova, E., & Banovci, P. (2011). Recurrent Respiratory Infections in Children – Definition, Diagnostic Approach, Treatment and Prevention. *Bronchitis*. Retrieved from <https://www.intechopen.com/books/bronchitis/recurrent-respiratory-infections-in-children-definition-diagnostic-approach-treatment-and-prevention>. doi: 10.5772/19422
- [7] Raniszewska, A., Górska, E., Kotula, I., Stelmaszczyk-Emmel, A., Popko, K., & Ciepiela, O. (2015). Recurrent respiratory tract infections in children – analysis of immunological examinations. *Central European Journal Of Immunology*, 40(2), 167-173. doi: 10.5114/cej.2015.52830
- [8] Hai-Feng, L., Yan, Z., Pei-Gang, J., & Hong-Xing, J. (2014). Risk factors for recurrent respiratory infections in preschool children in china. *Iranian Journal of Pediatrics*, 24(1), 14-22.
- [9] Ruuskanen, O., Nurkka, A., Helminen, M., Viljanen, M., Käyhty, H., & Kainulainen, L. (2013). Specific antibody deficiency in children with recurrent respiratory infections: a controlled study with follow-up. *Clinical & Experimental Immunology*, 172(2), 238-244. doi: 10.1111/cei.12053
- [10] Schaad, U., Esposito, S., & Razi, C. (2015). Diagnosis and Management of Recurrent Respiratory Tract Infections in Children: A Practical Guide. *Archives Of Pediatric Infectious Diseases*, 4(1), e31039. doi: 10.5812/pedinf.31039
- [11] Macchi, A., Esposito, C., Debernardi, F., Simoncini, D., Peirolo, A., & Castelnovo, P. (2018). The role of immunomodulation therapy in preventing recurrent respiratory infections in children. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/323079575\\_The\\_role\\_of\\_immunomodulation\\_therapy\\_in\\_preventing\\_recurrent\\_respiratory\\_infections\\_in\\_children](https://www.researchgate.net/publication/323079575_The_role_of_immunomodulation_therapy_in_preventing_recurrent_respiratory_infections_in_children)
- [12] Sütçü, M., Acar, M., Aktürk, H., Hançerli-Törün, S., Salman, N., & Somer, A. (2016). Recognizing immunodeficiency in children with recurrent infections: what are the predictive factors? *The Turkish Journal Of Pediatrics*, 58(6), 609-615. doi: 10.24953/turkijped.2016.06.006
- [13] El-Azami-El-Idrissi, M., Lakhdar-Idrissi, M., Chaouki, S., Atmani, S., Bouharrou, A., & Hida, M. (2016). Pediatric recurrent respiratory tract infections: when and how to explore the immune system? (About 53 cases). *Pan African Medical Journal*, 24, 53. doi: 10.11604/pamj.2016.24.53.3481
- [14] Rudenko, A., Yukhymenko, O., Zelena, N., Tarasova, I., Sliusarev, O., & Samarin, D. et al. (2015). Znachennia antibakterialnoi terapii u likuvanni ditei z retsydyvnymi infektsiyami verkhnikh dykhalnykh shliakhiv [Importance antibiotic therapy in treating children with recurrent upper respiratory tract infections]. *Modern pediatrics*, 71(7), 80-85. doi: 10.15574/sp.2015.71.80 [in Ukrainian].
- [15] Chernyshova, L. I. (2018). Rekurentni respiratorni zakhvoriuvannia u ditei: alhorytm dii likaria (lektsiia) [Recurrent respiratory diseases in children: the physician's action algorithm (lecture)]. *Modern pediatrics*, 3(91), 92-97. doi: 10.15574/SP.2018.91.92 [in Ukrainian].
- [16] Lafond, K., Nair, H., Rasooly, M., Valente, F., Booy, R., & Rahman, M. et al. (2016). Global Role and Burden of Influenza in Pediatric Respiratory Hospitalizations, 1982-2012: A Systematic Analysis. *PLOS Medicine*, 13(3), e1001977. doi: 10.1371/journal.pmed.1001977

- [17] Levchyn, A. M. (2013). Klinichna kharakterystyka ditei 1-5 rokov iz rekurentnymy respiratornymy infektsiamy [Clinical characteristic of children of 1-5 years with recurrent respiratory infections]. *Ukrainian medical almanac*, 16(1), 26-28. [in Ukrainian].
- [18] Chopiak, V. V., Potomkina, H. O., Kril, I. Y., Bilianska, L. M., Mazurak, M. V., & Lishchuk-lakymovych, Kh. O. (2015). Doslidzhennia rehuliatornykh immunnykh mekhanizmiv ta mozhlyvostei yikh korektsii u ditei, shcho chasto khvoriuit [Examination of regulatory immune mechanisms in frequently ill children and their correctability]. *Modern pediatrics*, 3(67), C. 80-87. doi: 10.15574/SP.2015.67.85 [in Ukrainian].
- [19] Carey, I., Critchley, J., DeWilde, S., Harris, T., Hosking, F., & Cook, D. (2018). Risk of Infection in Type 1 and Type 2 Diabetes Compared With the General Population: A Matched Cohort Study. *Diabetes Care*, 41(3), 513-521. doi: 10.2337/dc17-2131
- [20] Pateva, I. B., Kerling, E. H., Reddy, M., Chen, D., Carlson, S. E., & Tancabelic, J. (2015). Effect of maternal cigarette smoking on newborn iron stores. *Clinical Research And Trials*, 1(1), 4-7.
- [21] Kozakevych, O. B. (2016). Fizychni rozvytok vkrai nedonoshenykh ditei uprodovzh pershykh trokh rokov zhyttia ta faktory ryzyku, shcho vplyvaiut na yoho znachnu zatymku [Physical development extremely premature infants during the first three years of life and risk factors affecting its considerable delay]. *Modern pediatrics*, 4(76), 36-39. doi: 10.15574/SP.2016.76.36 [in Ukrainian].
- [22] Mukvich, O. M., & Kaminska, T. M. (2017). Preventyvna ta likuvalna efektyvnist bioflavonoidiv u ditei z rekurentnymy respiratornymy infektsiamy [Preventive and therapeutic effectiveness of bioflavonoids in children with recurrent respiratory infections]. *Child's Health*, 12(2), 124-129. doi: 10.22141/2224-0551.12.2.2017.99767 [in Ukrainian].
- [23] Bergman, P., Norlin, A., Hansen, S., & Björkhem-Bergman, L. (2015). Vitamin D supplementation to patients with frequent respiratory tract infections: a post hoc analysis of a randomized and placebo-controlled trial. *BMC Research Notes*, 8, 391. doi: 10.1186/s13104-015-1378-3
- [24] Lemko, O. I., Lukashchuk, S. V., Vantiukh, N. V., & Popadynets, M. I. (2017). Vplyv vidnovliuvalnogo likuvannia na imunnyi status ditei iz rekurentnymy respiratornymy zakhvoriuvanniamy [The influence of recovery treatment on the immune status of children with recurrent respiratory infections]. *Child's Health*, 12(7), 773-779. doi: 10.22141/2224-0551.12.7.2017.116182 [in Ukrainian].
- [25] Yurochko, F. (2013). Retsydyvuiuchi respiratorni infektsii u ditei [Respiratory recurrent infections in children]. *Modern pediatrics*, 5(53), 91-96. [in Ukrainian].
- [26] (2012). Pro stvorennia ta vprovadzhennia medyko-tekhnologichnykh dokumentiv zi standartyzatsii medychnoi dopomohy v systemi Ministerstva okhorony zdorovia Ukrainy nakaz MOZ Ukrainy vid 28.09.2012 roku №751. [About creation and implementation of medical-technological documents on standardization of medical care in the system of the Ministry of Health of Ukraine: order of the Ministry of Health of Ukraine from September 28, 2012 №751]. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z2001-12>. [in Ukrainian].
- [27] Bright, P., Rooney, N., Virgo, P., Lock, R., Johnston, S., & Unsworth, D. (2014). Laboratory clues to immunodeficiency; missed chances for early diagnosis? *Journal Of Clinical Pathology*, 68(1), 1-5. doi: 10.1136/jclinpath-2014-202618
- [28] Lear, S., & Condliffe, A. (2014). Respiratory infection and primary immune deficiency – what does the general physician need to know? *The Journal Of The Royal College Of Physicians Of Edinburgh*, 44(2), 149-155. doi: 10.4997/jrcpe.2014.214
- [29] Surendran, N., Nicolosi, T., Kaur, R., Morris, M., & Pichicheero, M. (2016). Prospective study of the innate cellular immune response in low vaccine responder children. *Innate Immunity*, 23(1), 89-96. doi: 10.1177/1753425916678471
- [30] Arakawa, H., Hamasaki, Y., Kohno, Y., Ebisawa, M., Kondo, N., & Nishima, S. et al. (2017). Japanese guidelines for childhood asthma 2017. *Allergology International*, 66(2), 190-204. doi: 10.1016/j.alit.2016.11.003
- [31] Zheng, X., Xu, Y., Guan, W., & Lin, L. (2018). Regional, age and respiratory-secretion-specific prevalence of respiratory viruses associated with asthma exacerbation: a literature review. *Archives Of Virology*, 163(4), 845-853. doi: 10.1007/s00705-017-3700-y
- [32] Jartti, T., & Gern, J. (2017). Role of viral infections in the development and exacerbation of asthma in children. *Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, 140(4), 895-906. doi: 10.1016/j.jaci.2017.08.003
- [33] Garcia-Garcia, M., Calvo Rey, C., & del Rosal Rabes, T. (2016). Asma y virus en el niño. *Archivos De Bronconeumología*, 52(5), 269-273. doi: 10.1016/j.arbres.2015.11.008
- [34] Maidannyk, V. H., Besh, L. V., Koloskova, O. K., & Smiian O. I. (2018). Bronkhialna astma u ditei: novi klinichni rekomendatsii [Bronchial asthma in children: new clinical guidelines]. *International Journal of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology*, 12(1), 28-42. [in Ukrainian].
- [35] Sacco, O., Silvestri, M., Ghezzi, M., Capizzi, A., & Rossi, G. (2018). Airway inflammation and injury in children with prevalent weakly acidic gastroesophageal refluxes. *Respiratory Medicine*, 143, 42-47. doi: 10.1016/j.rmed.2018.08.011
- [36] Rybak, A., Pesce, M., Thapar, N., & Borrelli, O. (2017). Gastro-Esophageal Reflux in Children. *International Journal Of Molecular Sciences*, 18(8), 1671. doi: 10.3390/ijms18081671
- [37] Borisova, T. P., Badogina, L. P., T. V., & Fedko. (2018). Rekurrentnye respiratornye infekcii v pediatricheskoj praktike: jeffektivnost primeneniya inozina pranobeksa [Recurrent respiratory infections in pediatric practice: the effectiveness of the use of inosine pranobex]. *Child's Health*, 13(7), 674-680. doi: 10.22141/2224-0551.13.7.2018.148921 [in Ukrainian].
- [38] Lukashchuk, S. V., & Lemko, O. I. (2016). Pryntsyypy vedennia ditei iz chastymy ta retsydyvnymy zakhvoriuvanniamy dykhalnykh shliakhiv (ohliad literatury) [The principles of treatment in children with frequent and recurrent respiratory diseases (literature review)]. *Modern pediatrics*, 7(79), 48-52. doi: 10.15574/SP.2016.79.48 [in Ukrainian].
- [39] Marushko, T. V., & Asonov, A. O. (2018). Osoblivosti miscevoi terapii gostrih zapalnih zahvorjuvan rotoglotki u ditei [Features of local therapy of acute inflammatory diseases of the oropharynx in children]. *Modern pediatrics*, 3(91), 98-101. doi: 10.15574/SP.2018.91.98 [in Ukrainian].
- [40] Jolliffe, D., Greenberg, L., Hooper, R., Griffiths, C., Camargo, C., & Kerley, C. et al. (2017). Vitamin D supplementation to prevent asthma exacerbations: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *The Lancet Respiratory Medicine*, 5(11), 881-890. doi: 10.1016/s2213-2600(17)30306-5
- [41] Passali, D., Gabelli, G., Passali, G., Mösges, R., & Bellussi, L. (2017). Radon-enriched hot spring water therapy for upper and lower respiratory tract inflammation. *Otolaryngologia Polska*, 71(4), 8-13. doi: 10.5604/01.3001.0010.2242
- [42] Pieshkova, O. V. (2015). Likuvalna fizychna kultura yak zasib profilaktyky dla ditei, yaki chasto khvoriuit na hostri respiratorni zakhvoriuvannia [Therapeutic physical training as a means of prevention for children with frequent episodes of acute respiratory diseases]. *Slobozhansky Scientific Journal Sports*, 2(46), 154-160. doi: <https://doi.org/10.15391/sns.v2015-2.030> [in Ukrainian].
- [43] Lemko, O. I., Lemko, I. S. (2018). Speleoterapiia, haloterapiia, haloaeroterapiia: definitsii, mekhanizmy vplyvu, perspektyvy vykorystannia (chastyna II) [Speleotherapy, halotherapy, haloaerotherapy: definitions, mechanisms of influence, perspectives of usage (part II)]. *Asthma and Allergy*, 3, 34-41. doi: 10.31655/2307-3373-2018-3-34-41 [in Ukrainian].



## Раптова несподівана смерть при епілепсії: огляд літератури та власні спостереження

Л. Б. Мар'єнко<sup>\*A-F</sup>, К. М. Мар'єнко<sup>B,C,D,F</sup>

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Мета роботи** – на підставі вивчення результатів досліджень, що наведені у джерелах наукової інформації за останні роки, проаналізувати сучасний стан наукових даних щодо раптової несподіваної смерті при епілепсії (РАНСЕП), її визначення та класифікації, факторів ризику, епідеміологічних даних, патофізіології, валідності запропонованих біомаркерів, результатів патологоанатомічних досліджень, заходів профілактики РАНСЕП, а також навести власні спостереження летальних випадків з їхньою класифікацією.

Численні дослідження, котрі здійснили протягом останніх років, показали високе медичне та соціальне значення проблеми раптової несподіваної смерті при епілепсії, частота якої у хворих на епілепсію у 20 разів порівняно з загальною популяцією. Доведений зв'язок такої смерті з генералізованим тоніко-клонічним нападом (ГТКН) свідчить про реальну потенційну загрозу життю пацієнтів під час несприятливого фармакорезистентного перебігу захворювання. Можливими, але остаточно не доведеними, факторами ризику РАНСЕП можуть бути нічні напади під час сну, відсутність свідків, які могли б надати допомогу, положення у сні долілиць, чоловіча стать, вік початку епілепсії до 16 років і її тривалість понад 15 років, психіатрична коморбідність, вживання одночасно декількох протиепілептичних препаратів (ПЕП) або відсутність будь-якого лікування, симптоматична етіологія епілепсії, вживання ламотриджину при ідіопатичній епілепсії.

Остаточно патофізіологія РАНСЕП є невідомою. Запропоновані клінічні, генетичні, електрофізіологічні, радіологічні біомаркери РАНСЕП для ідентифікації осіб із підвищеним ризиком несподіваної смерті також не мають достатньої доказової бази. Можливі профілактичні заходи полягають у нічному стеженні за пацієнтом за допомогою акустичних і біосенсорних приладів, спеціальних смарт-годинників, у застосуванні кисневої маски під час або відразу після ГТКН. Є необхідність інформувати пацієнтів, передусім осіб із незадовільною прихильністю до лікування, про можливість раптової смерті для поліпшення їхнього комплаєнса.

Основним заходом профілактики вважають пошук ефективного лікування з якнайкращим контролем нападів і з мінімальними побічними діями ПЕП. Нині тільки цей шлях має доказову базу щодо зниження ризику РАНСЕП. Наведені власні спостереження випадків смерті, що відповідають критеріям різних типів РАНСЕП.

### Ключові слова:

епілепсія, раптова несподівана смерть при епілепсії, епідеміологія, фактори ризику, біомаркери, профілактика.

### Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 843–852

DOI:

10.14739/2310-1210.

2019.6.186718

\*E-mail:

lidam@ua.fm

## Внезапная неожиданная смерть при эпилепсии: обзор литературы и собственные наблюдения

Л. Б. Мар'єнко, Е. Н. Мар'єнко

**Цель работы** – на основании изучения результатов исследований, представленных в источниках научной информации за последние годы, проанализировать современное состояние научных данных о внезапной неожиданной смерти при эпилепсии (ВНСЭП), ее определении и классификации, факторах риска, эпидемиологических данных, патофизиологии, валидности предложенных биомаркеров, результатах патологоанатомических исследований, мероприятиях по профилактике ВНСЭП, а также представить собственные наблюдения летальных случаев с их классификацией.

Проведенные за последние годы многочисленные исследования продемонстрировали высокое медицинское и социальное значение проблемы внезапной неожиданной смерти при эпилепсии, частота которой у больных эпилепсией в 20 раз выше по сравнению с общей популяцией. Доказанная связь такой смерти с генерализованным тонико-клоническим припадком (ГТКП) свидетельствует о реальной потенциальной угрозе жизни пациентов при неблагоприятном фармакорезистентном течении заболевания. Возможными, но окончательно не доказанными, факторами риска ВНСЭП могут быть ночные приступы во время сна, отсутствие свидетелей, которые могли бы оказать помощь, положение во сне лицом вниз, мужской пол, возраст начала эпилепсии до 16 лет и ее продолжительность более 15 лет, психиатрическая коморбидность, употребление одновременно нескольких антиэпилептических препаратов (АЭП) или отсутствие какого-либо лечения, симптоматическая этиология эпилепсии, использование ламотриджина при идиопатической эпилепсии.

Окончательно патофизиология ВНСЭП не известна. Предложенные клинические, генетические, электрофизиологические, радиологические биомаркеры ВНСЭП для идентификации лиц с повышенным риском внезапной смерти также не имеют достаточной доказательной базы. Возможные профилактические мероприятия заключаются в ночном слежении за пациентом с помощью акустических и биосенсорных приборов, специальных смарт-часов, в применении кислородной маски во время или сразу после ГТКП. Существует необходимость информирования пациентов, прежде всего лиц с неудовлетворительной приверженностью к лечению, о возможности внезапной смерти для улучшения их комплаєнса.

Основным профилактическим мероприятием считается поиск эффективного лечения с наилучшим контролем припадков и минимальными побочными действиями АЭП. На данном этапе только этот путь имеет доказательную базу по снижению риска ВНСЭП. Представлены собственные наблюдения смертельных случаев, отвечающие критериям разных типов ВНСЭП.

### Ключевые слова:

эпилепсия, внезапная неожиданная смерть при эпилепсии, эпидемиология, факторы риска, профилактика.

### Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 843–852

DOI:

10.14739/2310-1210.

2019.6.186718

\*E-mail:

lidam@ua.fm

**Key words:**

epilepsy, sudden death, epidemiology, risk factors, biomarkers, prevention.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (6), 843–852

**Sudden unexpected death in epilepsy: a review of literature and own observations**

L. B. Marienko, K. M. Marienko

**The purpose.** To analyze the current state of scientific data related to sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) based on the study of recent investigations presented in the sources of scientific information about definition and classification of SUDEP, its risk factors, epidemiological data, pathophysiology, validity of proposed biomarkers, results of post-mortem examinations, measures of SUDEP prevention and also to present own observations of deaths with their classification.

Numerous studies of the recent years have demonstrated the high medical and social significance of the problem of sudden unexpected death in epilepsy, the prevalence of which in patients with epilepsy is 20 times higher than in the general population. The proven association of such a death with a generalized tonic-clonic seizure (GTCS) indicates a real potential threat to life of patients with an unfavorable pharmacoresistant course of the disease. Possible, but not definitively evident, risk factors for SUDEP could be nighttime seizures during sleep, absence of witnesses who could help, prone position during sleep, male gender, age of epilepsy onset before 16 years and its duration more than 15 years, psychiatric comorbidity, simultaneous use of several anti-epileptic drugs (AEDs) or absence of any treatment, symptomatic etiology of epilepsy, use of lamotrigine in idiopathic epilepsy. The exact pathophysiology of SUDEP is unknown. The proposed clinical, genetic, electrophysiological, radiological SUDEP biomarkers for the purpose of identifying individuals with an increased risk of sudden death also do not have sufficient evidence base. Possible preventive SUDEP measures include monitoring of patients' night sleep with the use of acoustic and biosensor devices, special smart-watches, usage of oxygen mask during or immediately after GTCS. There is a need to inform patients, especially those with unsatisfactory adherence to treatment, about the possibility of sudden death in order to improve their compliance. The main measure of prevention is the search for effective treatment with the best seizure control and minimal AEDs side effects. At present, only this way has an evidence base for reducing the risk of SUDEP. Own observations that meet the criteria for different types of SUDEP are presented.

Ще наприкінці минулого століття лікарі вкрай рідко застерігали пацієнтів з епілепсією про можливість передчасної смерті, по-перше, у зв'язку з побоюванням заподіяти хворому додатковий психологічний дистрес, по-друге, через незначну кількість наукових досліджень, на результати яких можна було б спиратись, порушуючи таку делікатну тему під час спілкування з пацієнтом. Результати систематичного, заснованого на доказах огляду, здійсненого у 2017 р. членами робочої групи Міжнародної протиепілептичної ліги (ILAE) з вивчення смертності, свідчать про підвищений у 2,2 раза ризик передчасної смерті осіб з епілепсією в усіх вікових групах порівняно з загальною популяцією у країнах із високим рівнем доходу [1], у 2,6 раза – у країнах із низьким і середнім рівнем доходу [2].

Імовірність смертельного наслідку пов'язана з багатьма чинниками: етіологією епілепсії, наявністю неконтрольованих нападів, коморбідністю, низькою прихильністю до лікування тощо [3,4]. Причинами смерті можуть бути захворювання, на тлі яких розвинулась епілепсія як друга хвороба, тобто її етіологічні чинники (церебро-васкулярна патологія, об'ємні утворення головного мозку або ускладнення після їхнього видалення тощо). Власне, з епілепсією пов'язані такі фактори, як нещасні випадки, утоплення, черепно-мозкові травми, опіки, аспіраційна пневмонія, самогубства, епілептичний статус, наслідки хірургічного або медикаментозного лікування захворювання (синдромі Стівенса–Джонсона, Лаелла, DRESS-синдром гіперчутливості до ліків) [5,6]. Деякі автори [7] виокремлюють додатково так звані неприродні причини смерті, яка виникає внаслідок зовнішніх чинників і може бути навмисною (самогубство або вбивство) або ненавмисною (наприклад, різні аварії).

Серед цих різноманітних причин смерті хворих на епілепсію за останні 20 років привертає до себе все більше уваги раптова несподівана смерть при епілепсії (РАНСЕП), особливо у зв'язку з високою частотою та необхідністю розробки профілактичних заходів її виникнення. Недостатня обізнаність лікарів-практиків щодо РАНСЕП, імовірно, пояснюється тим, що з подіб-

ними випадками частіше мають справу не клініцисти, а патологоанатоми та судові медики.

**Мета роботи**

На підставі вивчення результатів досліджень, що наведені у джерелах наукової інформації за останні роки, проаналізувати сучасний стан наукових даних щодо раптової несподіваної смерті при епілепсії, її визначення та класифікації, факторів ризику, епідеміологічних даних, патофізіології, валідності запропонованих біомаркерів, результатів патологоанатомічних досліджень, заходів профілактики РАНСЕП, а також навести власні спостереження летальних випадків із їхньою класифікацією.

**Визначення.** РАНСЕП – раптова, несподівана, не пов'язана з травмою чи утопленням смерть людини з епілепсією, при свідках чи без них, з підтвердженням нападом або без нього (крім задокументованого епілептичного статусу), коли посмертне дослідження не виявляє анатомічну або токсикологічну причину смерті [8,9]. Це визначення стосується підтвердженої (definite) РАНСЕП і виключає наявність будь-якої альтернативної причини смерті. В англійській науковій літературі закріплено абревіатуру SUDEP (sudden unexpected death in epilepsy), і наголошується на тому, що у визначенні раптової смерті слід використовувати слово «несподівана» (unexpected), а не слово «незрозуміла» (unexplained) [10]. Як можлива причина смерті пацієнта з епілепсією, РАНСЕП не включена в Міжнародну класифікацію хвороб 10 перегляду (МКХ-10), тому, як наслідок і як правило, така смерть не буває розпізнаною та представленою у висновках експертів-патологоанатомів, натомість встановлюють помилковий діагноз раптової серцевої смерті [11]. Правильна класифікація причини смерті в людей з епілепсією має важливе значення для будь-яких наступних досліджень, зокрема епідеміологічних [12].

Міжнародна увага фахівців була звернута до проблеми РАНСЕП у 1996 р., коли вперше була організована конференція, ініційована групою родичів і

друзів померлих пацієнтів і підтримана 60 міжнародними експертами [10]. У США з 2014 р. встановлений день (23 жовтня) усвідомлення такого явища, як РАНСЕП (SUDEP Awareness Day), що у 2017 р. став глобальним днем активних дій (SUDEP Action Day) щодо запобігання раптової смерті хворих на епілепсію. Метою кампанії, в яку нині залучені вчені, клініцисти, медичні експерти, некомерційні організації, є підвищення обізнаності про РАНСЕП серед лікарів, пацієнтів та їхніх родин, заохочення людей з епілепсією більше дізнаватися про індивідуальний ризик цієї поширеної форми смерті при епілепсії шляхом запуску інноваційних дослідницьких проєктів і просвітницьких програм.

**Епідеміологічні дані.** РАНСЕП є другою після інсульту провідною неврологічною причиною загальної втрати потенційних років життя [6]. Частота раптової смерті в пацієнтів з епілепсією у 20 разів вища порівняно з загальною популяцією [13]. Щорічна кількість померлих від РАНСЕП у світі становить майже 80 000 осіб [14], це від 16 % до 36 % усіх смертей хворих на епілепсію [15]. За даними R. Shankar et al. [16], РАНСЕП виникає в одного з 10 000 пацієнтів з уперше діагностованою епілепсією та в одного з 1000 пацієнтів із хронічним її перебігом. У Великій Британії РАНСЕП виникає щороку майже в 500 випадках із 1200 смертей, що пов'язані з епілепсією [13], тобто майже у 42 % летальних наслідків. У молодих пацієнтів (20–40 років) поширеність раптової смерті у 27 разів вища, ніж у загальній популяції того самого віку [5]. У дітей частота РАНСЕП вважається нижчою, ніж у дорослих, становлячи 1 випадок на 4500 хворих протягом року [17]. Однак за іншими даними, раптову смерть відзначають однаково часто як у дітей, так і в дорослих [18]. Насправді оцінити реальну частоту раптових смертей, що пов'язані з нападами та епілепсією, доволі складно через відсутність комплексних масштабних популяційних досліджень [19].

**Класифікація.** Перші спроби класифікувати РАНСЕП зроблені в 1997 р. [20,21]. У 2012 р. група авторів запропонували уніфіковане визначення РАНСЕП та її удосконалену класифікацію з поділом на підтверджену (definite SUDEP), підтверджену РАНСЕП-плюс (definite SUDEP-plus), імовірну (probable), можливу (possible) та подібну до РАНСЕП (near SUDEP) [8]. У статтях, що опубліковані в наступні роки, використовують саме такий поділ раптової смерті при епілепсії.

Визначення підтвердженої РАНСЕП та її критерії наведені вище [8,9].

Категорію РАНСЕП-плюс використовують у випадках, коли смерть відповідає критеріям РАНСЕП [8], але попередньо у пацієнта вже існувала патологія, що могла б стати причиною смерті. Наприклад, якщо прижиттєво у хворого були ознаки коронарної недостатності або синдром подовженого інтервалу QT на ЕКГ, але при посмертному розтині не виявили ознаки інфаркту міокарда, не було задокументованої фатальної аритмії, то таку смерть вважають РАНСЕП-плюс. Ключовим чинником встановлення такого діагнозу є здійснення патологоанатомічного дослідження.

Якщо розтин не проводили, але обставини смерті наводять на думку, що це була раптова неочікувана смерть, застосовують термін імовірної РАНСЕП. Наприклад, якщо є анамнестичні дані про наявність у пацієнта

генералізованих тоніко-клонічних нападів (ГТКН) і чітка інформація про обставини смерті, встановлюють цей діагноз, незважаючи на те, що аутопсію не виконували.

Можливу РАНСЕП визначають у випадках, коли обставини смерті відповідають критеріям РАНСЕП, але розтин не проводили та є потенційна причина смерті, що конкурує.

Смерть, що подібна до РАНСЕП, включає випадки, коли внаслідок реанімаційних заходів після зупинки серцевої та дихальної діяльності пацієнт виживає ще протягом понад 1 години, далі настає смерть, і під час аутопсії не виявляють її структурну причину.

Діагноз РАНСЕП є неправомірним для смерті внаслідок відомої причини, наприклад, асфіксії, в тому числі в результаті тяжкої аспірації шлунковим вмістом, при підтвердженому утопленні, внаслідок серцево-легеневої недостатності при інфаркті міокарда чи в результаті епілептичного статусу.

Якщо є сумнів щодо класифікації смерті в конкретному випадку, пропонують використовувати рішення консенсусу групи фахівців. Щоправда, в одній із останніх публікацій цю класифікацію критикують через неоднозначне трактування типів РАНСЕП різними експертами [22].

**Фактори ризику.** У багатьох дослідженнях вивчали клінічні фактори ризику РАНСЕП. Найбільш значущим і доведеним фактором ризику є ГТКН, що, як правило, передують смертельному наслідку. Більшість ГТКН мають сприятливий прогноз, але деякі можуть призводити до таких ускладнень, як серцеві аритмії, інфаркт міокарда, черепно-мозкові травми, внутрішньомозковий крововилив, переломи, рабдоміоліз, аспіраційна пневмонія, гострі травми внутрішніх органів, психіатричні розлади (делірії або психоз) [23]. Вогнищеві напади мають менше несприятливих наслідків, переважно це травми, опіки, переломи. Ruylin P. et al. [24] стверджують, що ГТКН не просто пов'язаний із РАНСЕП, а перебувають із нею у причинно-наслідковому зв'язку: чим частішими є напади, тим більший ризик. Вважається, що тільки частота нападів (а не кількість застосованих препаратів) впливає на ризик смерті [25,26]. Наприклад, якщо пацієнт має 3 або більше ГТКН на місяць, ризик несподіваної смерті зростає в 15 разів [9,17]. Порівняно з відсутністю в пацієнта ГТКН серед типів нападів, ризик розвитку РАНСЕП збільшується в 5 разів при виникненні 1–2 ГТКН на рік і в 18 разів, якщо протягом року спостерігають понад 3 генералізовані судомні напади [4]. Отже, за даними більшості авторів, РАНСЕП частіше виникає після ГТКН [24,25], і найчастіше – під час нічного сну [14,25,27] і без свідків – у 85–90 % випадків [27–30].

Додатковими факторами ризику РАНСЕП вважають чоловічу стать, початок епілепсії у віці до 16 років, тривалість хвороби понад 15 років, вживання декількох протиепілептичних препаратів (ПЕП) [9,26], а також відсутність будь-якого лікування або зміна терапії кілька разів на рік, фармакорезистентність [4], симптоматичну етіологію епілепсії та вживання ламотриджину при її ідіопатичних формах [31]. Повідомляють про ймовірність більшого ризику несподіваної смерті при положенні в ліжку під час сну допліць [32].

Визначили залежність смертності від РАНСЕП від наявності у хворих психіатричної коморбідності. Як з'я-

сували S. Fazel et al. [33], з нею були пов'язані 75,2 % всієї неприродної смертності при епілепсії. Нещодавнє дослідження, що здійснене у Швеції, показало: жінки з супутніми психіатричними розладами мали 5-разове збільшення смертності від РАНСЕП порівняно з пацієнтами без таких порушень [34]. Наявні дані, що смертність є вищою в пацієнтів із низьким соціально-економічним статусом [6].

Але, як зазначено у практичних рекомендаціях Американської академії неврології (AAN) та Американського товариства епілепсії (AES), майже всі названі чинники вважають тепер такими, що мають низький рівень доказовості у виникненні РАНСЕП [17].

**Патофізіологія та пошуки біомаркерів.** Патофізіологія раптової смерті при епілепсії достеменно невідома [35,36]. Тому є критична потреба в пошуку можливих біомаркерів підвищеного ризику РАНСЕП для прижиттєвого виявлення пацієнтів, які перебувають у зоні такого ризику, для запобігання ймовірного смертельного наслідку [37]. Це дало б змогу навчати їх певних принципів лікування та способу життя, контролювати перебіг хвороби та вчасно втручатися в терапевтичний процес, щоб зменшити ризик несподіваної смерті.

Численні дослідження здійснювали для з'ясування причинно-наслідкового зв'язку між ГТКН як основного фактора ризику РАНСЕП, і летальним кінцем після нього. У цьому контексті розглядають кілька ланок такого процесу: розлади центральних мозкових механізмів, надалі – залежних від них дихальних і серцево-судинних функцій, тобто руйнування так званих нейро-кардіо-респіраторних зв'язків [38]. Послідовність подій на основі спостереження за 16 РАНСЕП описується так: розвиток ГТКН із наступною за ним негайною та короткою фазою прискореного дихання з переходом у брадикардію, брадикардія, пригнічення активності на ЕЕГ, після чого настають кінцеве апное й асистолія [24]. Отже, 3 основні чинники: порушення дихальної, серцево-судинної та центральної нервової систем – виявляються тісно пов'язаними та взаємно обтяжувальними.

Свій внесок у розлади вітальних функцій, імовірно, робить так зване «постіктальне генералізоване електроенцефалографічне (ЕЕГ) пригнічення» (ПГЕП), тобто «сплощення» ЕЕГ, що є частим спостереженням відразу після ГТКН [4]. Це явище виявили в осіб, які померли від РАНСЕП, під час відео-ЕЕГ-моніторингу. Основні церебральні патофізіологічні механізми, що викликають ПГЕП, невідомі, але тривалість попередньої тонічної фази, як і тяжкість перііктальної гіпоксемії та гіперкапнії з відсутністю рефлексорного пробудження, постіктальна нерухомість пацієнта вважають пов'язаними з цим феноменом [39]. Тому ПГЕП пропонують вважати електрофізіологічним біомаркером РАНСЕП [40].

Серед центральних механізмів РАНСЕП обговорюють роль ураження стовбура мозку в реалізації ПГЕП і фатальних розладів серцево-дихальної діяльності [40]. Mueller S. et al. [41] проаналізували результати МРТ досліджень пацієнтів, які через деякий час померли внаслідок РАНСЕП, і виявили зменшення об'єму тих ділянок стовбура мозку, які пов'язані з вегетативним контролем, що корелювало зі зниженням варіабельності серцевого ритму. Відзначено, що коротший час виживання пацієнтів залежав від більшої втрати об'єму

стовбурових структур. Оскільки МРТ може виявляти такі загрози для життя зміни в головному мозку за декілька років до РАНСЕП, автори висловили сподівання, що ці дані можуть слугувати радіологічним біомаркером ризику раптової смерті.

Низка досліджень присвячена вивченню зв'язку між варіантами порушення дихання та РАНСЕП. Найчастішим початковим проявом тонічної фази ГТКН є ларингоспазм, унаслідок якого відбувається зупинка дихання, що може призводити до тяжкої гіпоксемії з критичним впливом на серцеву діяльність [42]. Lascuey N. et al. [43] вивчали роль центрального іктального апное (ЦІА) в можливості раптової смерті. Центральне іктальне апное – часта самообмежена семіологічна ознака фокальної епілепсії, передусім скроневої. Такий тип короткотривалої зупинки дихання іноді може бути єдиним клінічним проявом вогнищевого нападу, який не є небезпечним і навіть буває непоміченим. Але якщо ЦІА триває понад 60 с і пов'язане з тяжкою гіпоксемією, то його пропонують вважати потенційним клінічним біомаркером РАНСЕП. Уточнення ролі перііктального апное здійснили L. Vilella et al. [44], які представили докази, що власне постіктальне центральне апное, а не ЦІА має значення для смертельного наслідку, особливо в комбінації з асистолією, і його можна розглядати як потенційний прижиттєвий біомаркер ризику РАНСЕП. У цьому ж контексті пропонують визначення рівня гіпоксемії після ГТКН, яка виникає у більшості хворих (86–100%) у найближчі 100 с під час і відразу після нападів [45]. Крім того, пригнічена активність серотонінових нейронів може призвести до послаблення природної реакції пробудження як відповіді на підвищення рівня вуглекислого газу в крові [40].

Виявили зв'язок між обструктивним апное під час сну та ризиком РАНСЕП, особливо у старших пацієнтів із надлишковою вагою та з тривалим перебігом вогнищевої епілепсії [46]. Негативні наслідки припинення дихання можуть посилюватися обструкцією дихальних шляхів у людей, які сплять обличчям донизу, цю обставину теж вважають фактором ризику РАНСЕП [27]. Отже, розглядають можливість багатьох механізмів зупинки дихання при РАНСЕП (ларингоспазм, центральне іктальне апное, постіктальне апное, обструктивне апное під час сну та положення в ліжку долілиць).

Продовжують вивчення впливу генетичних чинників на ймовірність летального наслідку у вигляді РАНСЕП. Результати досліджень, які здійснені на людях і на тваринних моделях, свідчать, що може існувати генетична схильність до РАНСЕП із великим полігенним внеском в її етіологію [47,48]. Відомо про тісний зв'язок між епілепсією та синдромом подовженого інтервалу QT на ЕКГ [49]. Цей аутосомно домінуючий розлад виявляють в однієї з 3 тис. осіб загальної популяції, він може призводити до раптової серцевої смерті через генетичне пошкодження іонних каналів у клітинах серцевого м'яза, що може спричинити фатальну фібриляцію шлуночків [48]. Такі самі канали та гени, що їх кодують, виявили в нейронах, тому мутації в одному гені можуть змінити збудливість як міокарда, так і головного мозку. У розвитку РАНСЕП припускають саме такий механізм одночасного порушення провідності серця та збудливості нейронів унаслідок генетичної патології калієвих і натрієвих кана-

лів [40,50]. Дослідження D. Friedman et al. [51] довели, що тільки в пацієнтів, які померли внаслідок РАНСЕП, є 6 відповідальних за виникнення аритмії генів, що не були знайдені в контрольній групі живих осіб з епілепсією. Тому автори пропонують як генетичний біомаркер РАНСЕП використовувати геномний аналіз резектованої тканини мозку пацієнтів, які були прооперовані з приводу епілепсії. З іншого боку, епілептичний судомний напад – важливий незалежний предиктор серцевих аритмій, зокрема фатальних [50], котрі буває важко задокументувати та які не завжди мають підтвердження під час аутопсії.

Ще одну спробу знайти клінічні біомаркери РАНСЕП здійснила група авторів [15], які розробили спеціальний опитувальник «The SUDEP-7 Inventory» для пацієнтів із тяжкою фармакорезистентною епілепсією. Він включає інформацію про частоту нападів, кількість застосованих одночасно ПЕП, тривалість захворювання, наявність розладів інтелекту. Автори висунули гіпотезу, що варіабельність серцевого ритму (BCP) як показник вегетативної регуляції серцевої діяльності, що давно є прогностичною ознакою раптової смерті при серцево-судинних захворюваннях, може також відігравати значну роль у механізмі РАНСЕП. Надалі з'ясували кореляції між результатами опитування та BCP після запису ЕКГ протягом години. Особи з вищими показниками анкети «The SUDEP-7 Inventory» мали знижену варіабельність серцевого ритму (незадовільне вагусне забезпечення BCP). Здійснили ще декілька досліджень, включаючи роботу щодо кореляцій між даними анкети і розвитком генералізованого пригнічення ЕЕГ після ГТКН [14,52,53]. Але в останніх публікаціях вважають сумнівною доцільність використання анкети як біомаркера РАНСЕП [52], а BCP взагалі не вважають фактором ризику раптової смерті [17]. Отже, спроби знайти однозначні біомаркери РАНСЕП поки що зазнали невдачі, що пояснюється неоднорідністю та багатфакторністю її патофізіологічних механізмів [4].

**Патологоанатомічне дослідження.** Аутопсія – обов'язкова процедура для підтвердження РАНСЕП. У фаховій літературі не описані патогномонічні ознаки такої смерті протягом патологоанатомічного дослідження, і більшість авторів вважають необхідним більш поглиблене вивчення змін в органах трупа, включаючи молекулярний рівень [38,54].

Повідомляють про часті виявлення слідів прикушення щокі або язика, які можна розцінити як ознаки судомного нападу, що передує смерті [55], але це не може бути достатньою доказовою ознакою. В головному мозку виявляють, як правило, ознаки набряку та гіпоксії, а в інших органах (серце, печінка, легені) – застійні явища з незначним збільшенням ваги кожного органа [12,56]. Суперечливі дані стосуються стану серцевого м'яза в померлих: повідомляється про гіпертрофію міоцитів, явища фіброзу міокарда різного ступеня [57], однак такі результати не підтверджено [54]. За даними O. Devinsky et al. [19], приблизно 67 % смертей, що відповідають критеріям РАНСЕП, розцінили як раптову серцеву смерть без достатніх доказів. Опубліковані поодинокі дослідження з аналізом розбіжностей в інтерпретації результатів автопсій пацієнтів з епілепсією, тому РАНСЕП залишається переважно нерозпізнаною,

і свідцтва про смерть суттєво занижують справжню кількість таких смертей [3,11]. У зв'язку з цим у США створена мультидисциплінарна експертна група для опрацювання доказових рекомендацій щодо практики виконання розтину, токсикологічного аналізу, інтерпретації їхніх результатів, а також правил сертифікації смерті для підвищення точності даних свідцтва про смерть, що пов'язана з епілепсією. Перший документ, що висвітлює попередню позицію групи, опублікований у 2018 р. [58].

**Профілактика.** Нині немає науково доведених стратегій запобігання РАНСЕП, не було проведено жодного рандомізованого клінічного дослідження, яке б доводило ефективність тих чи інших заходів профілактики [9,37,41]. Спроби розробки таких заходів фокусуються на двох підходах: по-перше, на поліпшенні контролю нападів через адекватне лікування (медикаментозне, нейрохірургічне чи нейростимуляційне), впорядкуванні способу життя пацієнта (гігієна сну, уникнення алкоголю, прихильність до протиепілептичного лікування), по-друге, на організації спостереження, моніторингу, особливо для пацієнтів із нічними судомними нападами [17,25,30,59]. Оптимальне лікування, під впливом якого зменшується частота нападів, відповідно мінімізує ризик смерті, хоча близько 10–12 % випадків РАНСЕП не є безпосереднім наслідком нападів [60]. Доведено, що покращення контролю нападів можна досягти не тільки медикаментозною терапією, але й хірургічним лікуванням, використанням нейростимуляції мозку та стимуляції блукаючого нерва [59,60]. Якщо не намагатися зменшити частоту нападів шляхом підбору інших, нових ліків, нових терапевтичних і хірургічних втручань, ризик РАНСЕП зростає вшестеро протягом року [17]. Запобігти генералізованому пригніченню електроактивності мозку після судомного нападу, що може призвести до РАНСЕП, рекомендують за допомогою кисневої маски в момент нападу або негайно після нього [45]. Пропонують використання решітчастих подушок із покращенням доступу повітря пацієнту під час сну при положенні в ліжку долілиць [61].

Найпростішим методом стеження за виникненням нападів є акустичні пристрої (типу «радіо-няні»), оскільки 85 % ГТКН починаються з іктального крику [62], щонайменше половина таких нападів може бути відстежена. Для поліпшення якості нічного стеження розробили різноманітні автоматизовані біосенсорні пристрої для реєстрації рухів: придатний до носіння поверхневий електроміограф із високою чутливістю (76–100 %), акселерометр, магнітні та п'єзоелектричні датчики [63–65]. Біосигнали можуть надати інформацію про декілька важливих характеристик іктального та постіктального періодів (тип ГТКН, тривалість тонічної фази, обертання в положення лежачи на животі, наявність і тривалість постіктальної нерухомості, порушення ритму серця, підвищення електрошкірної активності) [63]. Якщо в пацієнта після нападу виявляють постіктальне апное та брадикардію, що можуть призвести до асистолії та смерті, то таким пацієнтам рекомендується встановлення кардіостимулятора [66]. Нещодавно розпочато розробку пристроїв у вигляді наручних годинників (smart watch), що одночасно реєструють серцевий ритм (ЕКГ) і рухи тіла (акселерометр). Такий мультимодальний пристрій забезпечує постійну реєстрацію показників

пацієнта та є ефективнішим, ніж запропоновані раніше сенсорні прилади тільки для нічного моніторингу [67]. Але донині не здійснили масштабні дослідження, які б порівнювали різні пристрої, а тому важко визначити, який із них пропонує найкращий баланс чутливості та специфічності [68].

Дискутабельним залишається питання: чи проводити розмову з хворим про можливість смертельного наслідку після чергового ГТКН? Чи є це етичним? Чи не спровокує це розвиток депресії та суїцидальних думок? Більшість ГТКН завершується сприятливо, тому частина лікарів не мають бажання порушувати цю проблему під час спілкування з пацієнтами та їхніми родичами, побоюючись викликати психологічний дистрес. Але дослідження австралійських вчених [69] доводить, що у 89,5 % випадків дорослі хворі хочуть мати інформацію про РАНСЕП, тому що знали про неї тільки 14,3 % осіб. Навіть більше, надання інформації пацієнтам з епілепсією та їхнім родичам про можливу передчасну смерть істотно збільшує прихильність хворих до лікування порівняно з контрольною групою без негативного впливу на якість життя або настрої [70]. Тому більшість фахівців схиляються до думки про необхідність обговорювати можливі причини передчасної смерті з пацієнтами та їхніми родичами як одну з умов всебічної допомоги хворим, навіть якщо ймовірність такого наслідку мала [17,29].

Отже, незважаючи на велику кількість публікацій, метааналізів численних досліджень, нині немає одностайної думки щодо доказової бази ризиків, методів профілактики, визначених біомаркерів РАНСЕП. Імовірно, це пов'язано з невеликою кількістю випадків раптової смерті в окремих дослідженнях. Тому при Фонді епілепсії США (Epilepsy Foundation), який є національною некомерційною організацією, був створений Інститут РАНСЕП (SUDEP Institute), одним із завдань якого стало заохочення науковців у пошуку біомаркера або панелі біомаркерів РАНСЕП для ідентифікації осіб із ризиком її виникнення. Розгляд усіх досліджень завершиться у 2020 р. з винагородою авторам, якщо такі біомаркери будуть знайдені [71].

## Власні спостереження

1. Пацієнтка П., 25 років. Спадковість обтяжена (двоюрідна тітка страждає на епілепсію). У віці 16 років у школі стався перший генералізований тоніко-клонічний напад. Під час госпіталізації у стаціонарі через 2 дні виник ще один напад. З'ясувалося, що в анамнезі були міоклонічні посмикування рук, які посилювалися після недостатнього сну, стресів. ЕЕГ: генералізована епілептиформна активність у вигляді розрядів поліспайк-хвиль. МРТ без патології. Встановили діагноз: ідіопатична генералізована міоклонічна епілепсія Янца. Призначили вальпроат у дозі 600 мг/добу, який повністю контролював напади (вага хворої 50 кг). Через деякий час пацієнтка виїхала на 2 роки в Італію, де працювала її мати, і консультувалась у клініці епілептології м. Болонья, де діагноз підтверджено. Повернулася в Україну та з'явилася на консультацію після більш ніж 5-річної ремісії судомних нападів. Міоклонії виникали кілька разів на рік. Ліки приймала у попередній дозі. Влаштувалась на роботу,

вийшла заміж. Через рік пацієнтка померла вночі на 9 тижні вагітності. Свідків смерті не було. Зі слів чоловіка, за 3 тижні до смерті самовільно скасувала лікування ПЕП із переходом на гомеопатичні ліки. Під час розтину встановили помірний набряк головного мозку, повнокров'я печінки. Структурну чи токсикологічну причину смерті не виявили. Отже, смерть пацієнтки відповідає критеріям підтвердженої РАНСЕП, а фактором, що її спричинив, імовірно, було скасування ПЕП із можливим, але не засвідченим відновленням нападів.

2. Пацієнт Л., 60 років, хворів на фармакорезистентну вогнищеву епілепсію невідомої етіології понад 30 років. Отримувал за цей час 6 різних ПЕП у моно- і політерапії. Фокальні напади з порушенням усвідомлення (мануальні, амбулаторні автоматизми) виникали 1 раз на 2 місяці, напади з переходом у двобічні тоніко-клонічні – 2–3 рази на рік під час сну. МРТ: структурна патологія не виявлена. ЕЕГ: вогнищеві епілептиформні розлади у вигляді гострих хвиль, комплексів гостра-повільна хвиля в лобно-скроневих ділянках переважно справа. В анамнезі: з підліткового віку тривале лікування з приводу хронічного полісинуситу з частими загостреннями, оперативне видалення поліпів носової порожнини. Спадковість не обтяжена. Працював викладачем в університеті. Останні 2 роки почав захоплюватись нетрадиційною медициною (гірудотерапія, лікування зборами трав) із нерегулярним прийманням ПЕП. Раптово помер удома вночі після генералізованого судомного нападу, який відбувся на світанку, після чого хворий ніби заснув, а згодом дружина почула, що він не дихає. Посмертний розтин не проводили. Причини смерті, що конкурує, не було – серцево-судинної чи легеневої патології за життя не діагностували. За наведеними критеріями цей випадок можна вважати ймовірною РАНСЕП. Не виключено, що причиною розвитку епілепсії (МРТ-негативної) була хронічна ЛОР-патологія, а можливим чинником передчасної смерті – нерегулярне вживання ПЕП.

3. Пацієнт З., 32 роки, інвалід дитинства з діагнозом структурна фармакорезистентна епілепсія (наслідки пологової травми) з частими (1–2 на місяць) фокальними нападами з переходом у двобічні тоніко-клонічні. Останні 3 роки отримувал політерапію топіраматом (200 мг/добу) і вальпроатом (1200 мг/добу) з частотою нападів 1 на 1–2 місяці. МРТ: ознаки гіпоксично-ішемічного ураження лобно-скроневих часток головного мозку з помірною внутрішньою гідроцефалією. ЕЕГ: на тлі значних порушень фонові ритмики визначили вогнищеві епілептиформні розлади – розряди високоамплітудних гострих хвиль у лобно-скроневих ділянках двобічно. Пацієнта виявили мертвим у дачному будиночку, куди сам виїхав напередодні. Під час розтину констатована прижиттєва аспірація блювотними масами. Алкоголь у крові не виявили. Оскільки причиною смерті була асфіксія, яка могла настати під час епілептичного нападу, свідків якого не було, цей випадок не можна кваліфікувати як РАНСЕП.

## Висновки

1. Здійснені за останні роки численні дослідження показали високі медичне й соціальне значення проблеми раптової несподіваної смерті при епілепсії, частота якої у хворих на епілепсію у 20 разів вища порівняно з

загальною популяцією. Доведений зв'язок такої смерті з генералізованим тоніко-клонічним нападом свідчить про реальну потенційну загрозу життю пацієнтів при несприятливому фармакорезистентному перебігу захворювання.

2. Можливими, але остаточно не доведеними факторами ризику РАНСЕП можуть бути нічні напади під час сну, відсутність осіб, які могли б надати допомогу, положення у сні долілиць, чоловіча стать, вік початку епілепсії до 16 років та її тривалість понад 15 років, психіатрична коморбідність, вживання одночасно декількох ПЕП або відсутність будь-якого лікування, симптоматична етіологія епілепсії, вживання ламотриджину при ідіопатичній епілепсії. Остаточно патофізіологія РАНСЕП не відома. Запропоновані клінічні, генетичні, електрофізіологічні, радіологічні біомаркери РАНСЕП для ідентифікації осіб із підвищеним ризиком несподіваної смерті також не мають достатньої доказової бази. Можливі профілактичні заходи полягають у нічному стеженні за пацієнтом за допомогою акустичних і біосенсорних приладів, спеціальних смарт-годинників, у застосуванні кисневої маски під час або відразу після ГТКН.

3. Необхідно інформувати пацієнтів, передусім осіб із незадовільною прихильністю до лікування, про можливість раптової смерті для поліпшення їхнього комплаєнса. Основним заходом профілактики вважають пошук ефективного лікування з якнайкращим контролем нападів і з мінімальними побічними діями ПЕП. Нині тільки цей шлях має доказову базу щодо зниження ризику РАНСЕП.

**Перспективи подальших досліджень.** У зв'язку з тим, що, за даними іноземних авторів, у свідцтвах про смерть епілепсія як причина летального наслідку майже ніколи не вказується (за виключенням смерті внаслідок епілептичного статусу) та для вивчення ситуації з формулюванням посмертних висновків за результатами патологоанатомічних досліджень померлих пацієнтів з епілепсією в Україні на прикладі Львівської області передбачається здійснення ретроспективного аналізу історій хвороби та результатів автопсії таких хворих спільно з кафедрою патологічної анатомії ЛНМУ імені Данила Галицького. Результати дадуть змогу створити базу даних про причини смертей, здійснити її аналіз, визначити ймовірну поширеність РАНСЕП, удосконалити заходи з її запобігання.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 28.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 05.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 08.04.2019

#### Відомості про авторів:

Мар'єнко Л. Б., д-р мед. наук, доцент, в. о. професора каф. неврології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України.

ORCID ID: 0000-0001-8458-6659

Мар'єнко К. М., канд. мед. наук, доцент каф. неврології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України.

ORCID ID: 0000-0001-7207-7099

#### Сведения об авторах:

Мар'єнко Л. Б., д-р мед. наук, доцент, и. о. профессора каф. неврологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого МЗ Украины.

Мар'єнко Е. Н., канд. мед. наук, доцент каф. неврологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого МЗ Украины.

#### Information about authors:

Marienko L. B., MD, PhD, DSc, Acting Professor of the Neurology Department, Danylo Halytsky Lviv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv.

Marienko K. M., MD, PhD, Associate Professor of the Neurology Department, Danylo Halytsky Lviv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv.

#### Список літератури

- [1] The burden of premature mortality of epilepsy in high-income countries: A systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy / D. Thurman et al. *Epilepsia*. 2017. Vol. 58. Issue 1. P. 17-26. doi: 10.1111/epi.13604
- [2] Premature mortality of epilepsy in low- and middle-income countries: A systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy / F. Levira et al. *Epilepsia*. 2017. Vol. 58. Issue 1. P. 6-16. doi: 10.1111/epi.13603
- [3] Greenlund S., Croft J., & Kobau R. Epilepsy by the Numbers. *Epilepsy & Behavior*. 2017. Vol. 69. P. 28-30. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.01.016
- [4] Who to target in sudden unexpected death in epilepsy prevention and how? Risk factors, biomarkers, and intervention study designs / T. Tomson et al. *Epilepsia*. 2016. Vol. 57. Suppl. 1. P. 4-16. doi: 10.1111/epi.13234
- [5] Epilepsy and risk of death and sudden unexpected death in the young: A nationwide study / A. Holst et al. *Epilepsia*. 2013. Vol. 54. Issue 9. P. 1613-1620. doi: 10.1111/epi.12328
- [6] Recognizing and preventing epilepsy-related mortality / O. Devinsky, T. Spruill, D. Thurman, D. Friedman. *Neurology*. 2016. Vol. 86. Issue 8. P. 779-786. doi: 10.1212/wnl.0000000000002253
- [7] Risk of unnatural mortality in people with epilepsy / H. Gorton et al. *JAMA Neurology*. 2018. Vol. 75. Issue 8. P. 929-938. doi: 10.1001/jamaneuro.2018.0333
- [8] Unifying the definitions of sudden unexpected death in epilepsy / L. Nashef, E. So, P. Ryvlin, T. Tomson. *Epilepsia*. 2012. Vol. 53. Issue 2. P. 227-233. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03358.x
- [9] Treatments for the prevention of Sudden Unexpected Death in Epilepsy (SUDEP) / M. J. Maguire, C. F. Jackson, A. G. Marson, S. J. Nevitt. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016. Issue 7. CD011792. doi: 10.1002/14651858.CD011792.pub2
- [10] Sudden unexpected death in epilepsy / D. Chapman et al. *Camberwell Vic. : Epilepsy Australia*, 2011. P. 7, 11-15.
- [11] Ryvlin P., Cascino, G. Sudden unexpected death in epilepsy patients is often misdiagnosed as sudden cardiac death. *Neurology*. 2017. Vol. 89. Issue 9. P. 878-879. doi: 10.1212/wnl.0000000000004301
- [12] Audit of practice in sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) post mortems and neuropathological findings / M. Thom et al. *Neuropathology And Applied Neurobiology*. 2016. Vol. 42. Issue 5. P. 463-476. doi: 10.1111/nan.12265
- [13] Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP): Development of a safety checklist / R. Shankar et al. *Seizure*. 2013. Vol. 22. Issue 10. P. 812-817. doi: 10.1016/j.seizure.2013.07.014
- [14] Devinsky O., Friedman D., Besag F. Nocturnal monitoring in epilepsy: Evidence mounts. *Neurology*. 2018. Vol. 91. Issue 16. P. 731-732. doi: 10.1212/wnl.0000000000006345
- [15] Risk assessment for sudden death in epilepsy: The SUDEP-7 Inventory / J. Novak et al. *Frontiers In Neurology*. 2015. Vol. 6. P. 252. doi: 10.3389/fneur.2015.00252
- [16] Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP): what every neurologist should know / R. Shankar et al. *Epileptic Disorders*. 2017. Vol. 19. Issue 1. P. 1-9. doi: 10.1684/epd.2017.0891
- [17] Practice guideline summary: Sudden unexpected death in epilepsy incidence rates and risk factors / C. Harden et al. *Neurology*. 2017. Vol. 88. Issue 17. P. 1674-1680. doi: 10.1212/wnl.0000000000003685
- [18] Incidence of sudden unexpected death in epilepsy in children is similar to adults / A. Keller et al. *Neurology*. 2018. Vol. 91. Issue 2. P. e107-111. doi: 10.1212/wnl.00000000000005762
- [19] Underestimation of sudden deaths among patients with seizures and epilepsy / O. Devinsky et al. *Neurology*. 2017. Vol. 89. Issue 9. P. 886-892. doi: 10.1212/wnl.0000000000004292
- [20] Annegers J. United States perspective on definitions and classifications. *Epilepsia*. 1997. Vol. 38. Suppl. 11. P. S9-12. doi: 10.1111/j.1528-1157.1997.tb06137.x

- [21] Nashef L. Sudden unexpected death in epilepsy: terminology and definitions. *Epilepsia*. 1997. Vol. 38. Suppl. 11. P. 6-8. doi: 10.1111/j.1528-1157.1997.tb06130.x
- [22] Resolving ambiguities in SUDEP classification / O. Devinsky et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 6. P. 1220-1233. doi: 10.1111/epi.14195
- [23] Laboratory markers of cardiac and metabolic complications after generalized tonic-clonic seizures / R. Nass et al. *BMC Neurology*. 2017. Vol. 17. Issue 187. doi: 10.1186/s12883-017-0965-4
- [24] Incidence and mechanisms of cardiorespiratory arrests in epilepsy monitoring units (MORTEMUS): a retrospective study / P. Ryvlin et al. *The Lancet Neurology*. 2013. Vol. 12. Issue 10. P. 966-977. doi: 10.1016/s1474-4422(13)70214-x
- [25] Nocturnal supervision and SUDEP risk at different epilepsy care settings / M. van der Lende, D. Hesdorffer, J. Sander, R. Thijs. *Neurology*. 2018. Vol. 91. Issue 16. P. e1508-1518. doi: 10.1212/wnl.0000000000006356
- [26] Do antiepileptic drugs or generalized tonic-clonic seizure frequency increase SUDEP risk? A combined analysis / D. Hesdorffer et al. *Epilepsia*. 2012. Vol. 53. Issue 2. P. 249-252. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03354.x
- [27] Association of sleep with sudden unexpected death in epilepsy / A. Ali et al. *Epilepsy & Behavior*. 2017. Vol. 76. P. 1-6. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.08.021
- [28] Circumstances of SUDEP: A nationwide population-based case series / O. Sveinsson et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 5. P. 1074-1082. doi: 10.1111/epi.14079
- [29] After sudden unexpected death in epilepsy: Lessons learned and the road forward / E. Donner et al. *Epilepsia*. 2016. Vol. 57. Suppl. 1. P. 46-53. doi: 10.1111/epi.13235
- [30] Sudden unexpected death in epilepsy in patients treated with brain-responsive neurostimulation / O. Devinsky et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 3. P. 555-561. doi: 10.1111/epi.13998
- [31] Combined analysis of risk factors for SUDEP / D. Hesdorffer et al. *Epilepsia*. 2011. Vol. 52. Issue 6. P. 1150-1159. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02952.x
- [32] Association of prone position with sudden unexpected death in epilepsy / N. Sethi et al. *Neurology*. 2015. Vol. 85. Issue 13. P. 1185-1186. doi: 10.1212/wnl.0000000000002011
- [33] Premature mortality in epilepsy and the role of psychiatric comorbidity: a total population study / S. Fazel et al. *The Lancet*. 2013. Vol. 382. Issue 9905. P. 1646-1654. doi: 10.1016/s0140-6736(13)60899-5
- [34] The incidence of SUDEP / O. Sveinsson, T. Andersson, S. Carlsson, T. Tomson *Neurology*. 2017. Vol. 89. Issue 2. P. 170-177. doi: 10.1212/wnl.0000000000004094
- [35] St. Louis E., Dworetzky B. Postconvulsive central apnea and asystole. *Neurology*. 2019. Vol. 92. Issue 3. P. 115-116. doi: 10.1212/wnl.0000000000006765
- [36] Ryvlin P., Tomson T., Devinsky O. Prevention of Sudden Unexpected Death in Epilepsy. *European Neurological Review*. 2018. Vol. 13. Issue 2. P. 72-77. doi: 10.17925/enr.2018.13.2.72
- [37] Sudden unexpected death in epilepsy: Risk factors, biomarkers, and prevention / C. DeGiorgio, A. Curtis, D. Hertling, B. Moseley. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2018. Vol. 139. Issue 3. P. 220-230. doi: 10.1111/ane.13049
- [38] Sudden unexpected death in epilepsy: The neuro-cardio-respiratory connection / T. Manolis, A. Manolis, H. Melita, A. Manolis. *Seizure*. 2019. Vol. 64. P. 65-73. doi: 10.1016/j.seizure.2018.12.007
- [39] Peng W., Danison J., Seyal M. Postictal generalized EEG suppression and respiratory dysfunction following generalized tonic-clonic seizures in sleep and wakefulness. *Epilepsia*. 2017. Vol. 58. Issue 8. P. 1409-1414. doi: 10.1111/epi.13805
- [40] Sudden unexpected death in epilepsy: epidemiology, mechanisms, and prevention / O. Devinsky et al. *The Lancet Neurology*. 2016. Vol. 15. Issue 10. P. 1075-1088. doi: 10.1016/s1474-4422(16)30158-2
- [41] Mueller S. Brainstem Network Disruption in Focal Epilepsy and Sudden Unexplained Death in Epilepsy (SUDEP). *US Neurology*. 2018. Vol. 14. Issue 1. P. 27-28. doi: 10.17925/usn.2018.14.1.27
- [42] Laryngospasm, central and obstructive apnea during seizures: Defining pathophysiology for sudden death in a rat model / K. Nakase et al. *Epilepsy Research*. 2016. Vol. 128. P. 126-139. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2016.08.004
- [43] The incidence and significance of periictal apnea in epileptic seizures / N. Lacuey et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 3. P. 573-582. doi: 10.1111/epi.14006
- [44] Postconvulsive central apnea as a biomarker for sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) / L. Vilella et al. *Neurology*. 2018. Vol. 92. Issue 3. P. e171-182. doi: 10.1212/wnl.0000000000006785
- [45] Risk factors of postictal generalized EEG suppression in generalized convulsive seizures / V. Alexandre et al. *Neurology*. 2015. Vol. 85. Issue 18. P. 1598-1603. doi: 10.1212/wnl.0000000000001949
- [46] Obstructive sleep apnea in refractory epilepsy: A pilot study investigating frequency, clinical features, and association with risk of sudden unexpected death in epilepsy / A. McCarter et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 10. P. 1973-1981. doi: 10.1111/epi.14548
- [47] Genome-wide Polygenic Burden of Rare Deleterious Variants in Sudden Unexpected Death in Epilepsy / C. Leu et al. *Ebiomedicine*. 2015. Vol. 2. Issue 9. P. 1063-1070. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.07.005
- [48] Bagnall R., Crompton D., Semsarian C. Genetic Basis of Sudden Unexpected Death in Epilepsy. *Frontiers In Neurology*. 2017. Vol. 8. Issue 348. doi: 10.3389/fneur.2017.00348
- [49] Intercal cardiac repolarization abnormalities in people with epilepsy / N. Kishk et al. *Epilepsy & Behavior*. 2018. Vol. 79. P. 106-111. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.10.028
- [50] Genetic biomarkers for the risk of seizures in long QT syndrome / D. Auerbach, et al. *Neurology*. 2016. Vol. 87. Issue 16. P. 1660-1668. doi: 10.1212/wnl.0000000000003056
- [51] Cardiac arrhythmia and neuroexcitability gene variants in resected brain tissue from patients with sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) / D. Friedman et al. *Npj Genomic Medicine*. 2018. Vol. 3. Issue 9. doi: 10.1038/s41525-018-0048-5
- [52] Odum N., Bateman L. Sudden unexpected death in epilepsy, periictal physiology, and the SUDEP-7 Inventory. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 10. P. e157-160. doi: 10.1111/epi.14552
- [53] Characteristics of postictal generalized EEG suppression in children / B. Moseley et al. *Epilepsy Research*. 2013. Vol. 106. Issue 1-2. P. 123-127. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2013.05.007
- [54] Incidence of cardiac fibrosis in SUDEP and control cases / O. Devinsky et al. *Neurology*. 2018. Vol. 91. Issue 1. P. e55-61. doi: 10.1212/wnl.0000000000005740
- [55] Clark D., Riney K. A population-based post mortem study of sudden unexpected death in epilepsy. *Journal Of Clinical Neuroscience*. 2016. Vol. 23. P. 58-62. doi: 10.1016/j.jocn.2015.04.027
- [56] Afandi D., Romus I. Autopsy findings of SUDEP in adolescence. *The Malaysian Journal of Pathology*. 2018. Vol. 40. Issue 2. P. 185-189.
- [57] Pulmonary and cardiac pathology in sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) / F. Nascimento et al. *Epilepsy & Behavior*. 2017. Vol. 73. P. 119-125. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.05.013
- [58] National Association of Medical Examiners position paper: Recommendations for the investigation and certification of deaths in people with epilepsy / O. Middleton et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 3. P. 530-543. doi: 10.1111/epi.14030
- [59] Long-term surveillance of SUDEP in drug-resistant epilepsy patients treated with VNS therapy / P. Ryvlin et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 3. P. 562-572. doi: 10.1111/epi.14002
- [60] Sudden unexpected death in epilepsy in patients treated with brain-responsive neurostimulation / O. Devinsky et al. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue 3. P. 555-561. doi: 10.1111/epi.13998
- [61] Hypoxemia following generalized convulsive seizures / S. Rheims et al. *Neurology*. 2018. Vol. 92. Issue 3. P. e183-193. doi: 10.1212/wnl.0000000000006777
- [62] The diagnostic utility of the ictal cry / H. Elzawahry, C. Do, K. Lin, S. Benbadis. *Epilepsy & Behavior*. 2010. Vol. 18. Issue 3. P. 306-307. doi: 10.1016/j.yebeh.2010.04.041
- [63] Wearable devices for sudden unexpected death in epilepsy prevention / P. Ryvlin, C. Ciumas, I. Wisniewski, S. Beniczky. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue S1. P. 61-66. doi: 10.1111/epi.14054
- [64] Beniczky S., Conradsen I., Wolf P. Detection of convulsive seizures using surface electromyography. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue S1. P. 23-29. doi: 10.1111/epi.14048
- [65] Arends J. Movement-based seizure detection. *Epilepsia*. 2018. Vol. 59. Issue S1. P. 30-35. doi: 10.1111/epi.14053
- [66] Bartlam R., Mohanraj R. Ictal bradyarrhythmias and asystole requiring pacemaker implantation: Combined EEG-ECG analysis of 5 cases. *Epilepsy & Behavior*. 2016. Vol. 64. Part A. P. 212-215. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.06.026
- [67] Multimodal nocturnal seizure detection in a residential care setting / J. Arends et al. *Neurology*. 2018. Vol. 91. Issue 21. P. e2010-2019. doi: 10.1212/wnl.0000000000006545
- [68] Safe and sound? A systematic literature review of seizure detection methods for personal use / C. Jory et al. *Seizure*. 2016. Vol. 36. P. 4-15. doi: 10.1016/j.seizure.2016.01.013
- [69] Xu Z., Ayyappan S., Seneviratne U. Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP): What do patients think? *Epilepsy & Behavior*. 2015. Vol. 42. P. 29-34. doi: 10.1016/j.yebeh.2014.11.007
- [70] Effect of providing sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) information to persons with epilepsy (PWE) and their caregivers-Experience from a tertiary care hospital / D. Radhakrishnan et al. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2018. Vol. 138. Issue 5. P. 417-424. doi: 10.1111/ane.12994
- [71] Farrell K. SUDEP Challenge Initiative. 2018. URL: <https://www.epilepsy.com/living-epilepsy/our-programs/sudep-institute/sudep-challenge-initiative>

## References

- [1] Thurman, D., Logroscino, G., Beghi, E., Hauser, W., Hesdorffer, D., & Newton, C. et al. (2017). The burden of premature mortality of epilepsy



- in high-income countries: a systematic review from the mortality task force of the international league against epilepsy. *Epilepsia*, 58(1), 17-26. doi: 10.1111/epi.13604
- [2] Levira, F., Thurman, D., Sander, J., Hauser, W., Hesdorffer, D., & Masanja, H. et al. (2017). Premature mortality of epilepsy in low- and middle-income countries: a systematic review from the mortality task force of the international league against epilepsy. *Epilepsia*, 58(1), 6-16. doi: 10.1111/epi.13603
- [3] Greenlund, S., Croft, J., & Kobau, R. (2017). Epilepsy by the numbers. *Epilepsy & Behavior*, 69, 28-30. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.01.016
- [4] Tomson, T., Surges, R., Delamont, R., Haywood, S., & Hesdorffer, D. (2016). Who to target in sudden unexpected death in epilepsy prevention and how? Risk factors, biomarkers, and intervention study designs. *Epilepsia*, 57(S.1), 4-16. doi: 10.1111/epi.13234
- [5] Holst, A., Winkel, B., Risgaard, B., Nielsen, J., Rasmussen, P., & Haunsø, S. et al. (2013). Epilepsy and risk of death and sudden unexpected death in the young: A nationwide study. *Epilepsia*, 54(9), 1613-1620. doi: 10.1111/epi.12328
- [6] Devinsky, O., Spruill, T., Thurman, D., & Friedman, D. (2016). Recognizing and preventing epilepsy-related mortality. *Neurology*, 86(8), 779-786. doi: 10.1212/wnl.0000000000002253
- [7] Gorton, H., Webb, R., Carr, M., DelPozo-Banos, M., John, A., & Ashcroft, D. (2018). Risk of unnatural mortality in people with epilepsy. *JAMA Neurology*, 75(8), 929-938. doi: 10.1001/jamaneurol.2018.0333
- [8] Nashef, L., So, E., Ryvlin, P., & Tomson, T. (2012). Unifying the definitions of sudden unexpected death in epilepsy. *Epilepsia*, 53(2), 227-233. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03358.x
- [9] Maguire, M. J., Jackson, C. F., Marson, A. G., & Nevitt, S. J. (2016). Treatments for the prevention of Sudden Unexpected Death in Epilepsy (SUDEP). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 7, CD011792. doi: 10.1002/14651858.CD011792.pub2
- [10] Chapman, D., Panelli, R., Hanna, J., & Jeffs, T. (2011). *Sudden unexpected death in epilepsy* (pp. 7, 11-15). Camberwell, Vic.: Epilepsy Australia.
- [11] Ryvlin, P., & Cascino, G. (2017). Sudden unexpected death in epilepsy patients is often misdiagnosed as sudden cardiac death. *Neurology*, 89(9), 878-879. doi: 10.1212/wnl.0000000000004301
- [12] Thom, M., Michalak, Z., Wright, G., Dawson, T., Hilton, D., & Joshi, A. et al. (2016). Audit of practice in sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) post mortems and neuropathological findings. *Neuropathology And Applied Neurobiology*, 42(5), 463-476. doi: 10.1111/nan.12265
- [13] Shankar, R., Cox, D., Jalihal, V., Brown, S., Hanna, J., & McLean, B. (2013). Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP): Development of a safety checklist. *Seizure*, 22(10), 812-817. doi: 10.1016/j.seizure.2013.07.014
- [14] Devinsky, O., Friedman, D., & Besag, F. (2018). Nocturnal monitoring in epilepsy: Evidence mounts. *Neurology*, 91(16), 731-732. doi: 10.1212/wnl.0000000000006345
- [15] Novak, J., Miller, P., Markovic, D., Meymandi, S., & DeGiorgio, C. (2015). Risk assessment for sudden death in epilepsy: The SUDEP-7 Inventory. *Frontiers In Neurology*, 6, 252. doi: 10.3389/fneur.2015.00252
- [16] Shankar, R., Donner, E., McLean, B., Nashef, L., & Tomson, T. (2017). Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP): what every neurologist should know. *Epileptic Disorders*, 19(1), 1-9. doi: 10.1684/epd.2017.0891
- [17] Harden, C., Tomson, T., Gloss, D., Buchhalter, J., Cross, J., & Donner, E. et al. (2017). Practice guideline summary: Sudden unexpected death in epilepsy incidence rates and risk factors. *Neurology*, 88(17), 1674-1680. doi: 10.1212/wnl.0000000000003685
- [18] Keller, A., Whitney, R., Li, S., Pollanen, M., & Donner, E. (2018). Incidence of sudden unexpected death in epilepsy in children is similar to adults. *Neurology*, 91(2), e107-111. doi: 10.1212/wnl.0000000000005762
- [19] Devinsky, O., Friedman, D., Cheng, J., Moffatt, E., Kim, A., & Tseng, Z. (2017). Underestimation of sudden deaths among patients with seizures and epilepsy. *Neurology*, 89(9), 886-892. doi: 10.1212/wnl.0000000000004292
- [20] Annegers, J. (1997). United States perspective on definitions and classifications. *Epilepsia*, 38(S.11), S9-12. doi: 10.1111/j.1528-1167.1997.tb06137.x
- [21] Nashef, L. (1997). Sudden unexpected death in epilepsy: terminology and definitions. *Epilepsia*, 38(S.11), S6-8. doi: 10.1111/j.1528-1167.1997.tb06130.x
- [22] Devinsky, O., Bundock, E., Hesdorffer, D., Donner, E., Moseley, B., & Cihan, E. et al. (2018). Resolving ambiguities in SUDEP classification. *Epilepsia*, 59(6), 1220-1233. doi: 10.1111/epi.14195
- [23] Nass, R., Meiling, S., Andrié, R., Elger, C., & Surges, R. (2017). Laboratory markers of cardiac and metabolic complications after generalized tonic-clonic seizures. *BMC Neurology*, 17(187). doi: 10.1186/s12883-017-0965-4
- [24] Ryvlin, P., Nashef, L., Lhatoo, S., Bateman, L., Bird, J., & Bleasel, A. et al. (2013). Incidence and mechanisms of cardiorespiratory arrests in epilepsy monitoring units (MORTEMUS): a retrospective study. *The Lancet Neurology*, 12(10), 966-977. doi: 10.1016/s1474-4422(13)70214-x
- [25] van der Lende, M., Hesdorffer, D., Sander, J., & Thijs, R. (2018). Nocturnal supervision and SUDEP risk at different epilepsy care settings. *Neurology*, 91(16), e1508-1518. doi: 10.1212/wnl.0000000000006356
- [26] Hesdorffer, D., Tomson, T., Benn, E., Sander, J., Nilsson, L., & Langan, Y. et al. (2012). Do antiepileptic drugs or generalized tonic-clonic seizure frequency increase SUDEP risk? A combined analysis. *Epilepsia*, 53(2), 249-252. doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03354.x
- [27] Ali, A., Wu, S., Issa, N., Rose, S., Towle, V., Warnke, P., & Tao, J. (2017). Association of sleep with sudden unexpected death in epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 76, 1-6. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.08.021
- [28] Sveinsson, O., Andersson, T., Carlsson, S., & Tomson, T. (2018). Circumstances of SUDEP: A nationwide population-based case series. *Epilepsia*, 59(5), 1074-1082. doi: 10.1111/epi.14079
- [29] Donner, E., Waddell, B., Osland, K., Leach, J., Duncan, S., Nashef, L., & Picot, M. (2016). After sudden unexpected death in epilepsy: Lessons learned and the road forward. *Epilepsia*, 57(S.1), 46-53. doi: 10.1111/epi.13235
- [30] Devinsky, O., Friedman, D., Duckrow, R., Fountain, N., Gwinn, R., & Leiphart, J. et al. (2018). Sudden unexpected death in epilepsy in patients treated with brain-responsive neurostimulation. *Epilepsia*, 59(3), 555-561. doi: 10.1111/epi.13998
- [31] Hesdorffer, D., Tomson, T., Benn, E., Sander, J., Nilsson, L., & Langan, Y. et al. (2011). Combined analysis of risk factors for SUDEP. *Epilepsia*, 52(6), 1150-1159. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02952.x
- [32] Sethi, N., Lhatoo, S., Tao, J., Nashef, L., Tomson, T., & Ryvlin, P. et al. (2015). Association of prone position with sudden unexpected death in epilepsy. *Neurology*, 85(13), 1185-1186. doi: 10.1212/wnl.0000000000002011
- [33] Fazel, S., Wolf, A., Långström, N., Newton, C., & Lichtenstein, P. (2013). Premature mortality in epilepsy and the role of psychiatric comorbidity: a total population study. *The Lancet*, 382(9905), 1646-1654. doi: 10.1016/s0140-6736(13)60899-5
- [34] Sveinsson, O., Andersson, T., Carlsson, S., & Tomson, T. (2017). The incidence of SUDEP. *Neurology*, 89(2), 170-177. doi: 10.1212/wnl.0000000000004094
- [35] St. Louis, E., & Dworetzky, B. (2019). Postconvulsive central apnea and asystole. *Neurology*, 92(3), 115-116. doi: 10.1212/wnl.0000000000006765
- [36] Ryvlin, P., Tomson, T., & Devinsky, O. (2018). Prevention of Sudden Unexpected Death in Epilepsy. *European Neurological Review*, 13(2), 72-77. doi: 10.17925/enr.2018.13.2.72
- [37] DeGiorgio, C., Curtis, A., Hertling, D., & Moseley, B. (2018). Sudden unexpected death in epilepsy: Risk factors, biomarkers, and prevention. *Acta Neurologica Scandinavica*, 139(3), 220-230. doi: 10.1111/ane.13049
- [38] Manolis, T., Manolis, A., Melita, H., & Manolis, A. (2019). Sudden unexpected death in epilepsy: The neuro-cardio-respiratory connection. *Seizure*, 64, 65-73. doi: 10.1016/j.seizure.2018.12.007
- [39] Peng, W., Danison, J., & Seyal, M. (2017). Postictal generalized EEG suppression and respiratory dysfunction following generalized tonic-clonic seizures in sleep and wakefulness. *Epilepsia*, 58(8), 1409-1414. doi: 10.1111/epi.13805
- [40] Devinsky, O., Hesdorffer, D., Thurman, D., Lhatoo, S., & Richerson, G. (2016). Sudden unexpected death in epilepsy: epidemiology, mechanisms, and prevention. *The Lancet Neurology*, 15(10), 1075-1088. doi: 10.1016/s1474-4422(16)30158-2
- [41] Mueller, S. (2018). Brainstem Network Disruption in Focal Epilepsy and Sudden Unexplained Death in Epilepsy (SUDEP). *US Neurology*, 14(1), 27-28. doi: 10.17925/usn.2018.14.1.27
- [42] Nakase, K., Kollmar, R., Lazar, J., Arjomandi, H., Sundaram, K., & Silverman, J. et al. (2016). Laryngospasm, central and obstructive apnea during seizures: Defining pathophysiology for sudden death in a rat model. *Epilepsy Research*, 128, 126-139. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2016.08.004
- [43] Lacuey, N., Zonjy, B., Hampson, J., Rani, M., Zaremba, A., & Sainju, R. et al. (2018). The incidence and significance of periictal apnea in epileptic seizures. *Epilepsia*, 59(3), 573-582. doi: 10.1111/epi.14006
- [44] Vilella, L., Lacuey, N., Hampson, J., Rani, M., Sainju, R., & Friedman, D. et al. (2018). Postconvulsive central apnea as a biomarker for sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP). *Neurology*, 92(3), e171-182. doi: 10.1212/wnl.0000000000006785
- [45] Alexandre, V., Mercedes, B., Valton, L., Maillard, L., Bartolomei, F., & Szurhaj, W. et al. (2015). Risk factors of postictal generalized EEG suppression in generalized convulsive seizures. *Neurology*, 85(18), 1598-1603. doi: 10.1212/wnl.0000000000001949
- [46] McCarter, A., Timm, P., Shepard, P., Sandness, D., Luu, T., & McCarter, S. et al. (2018). Obstructive sleep apnea in refractory epilepsy: A

- pilot study investigating frequency, clinical features, and association with risk of sudden unexpected death in epilepsy. *Epilepsia*, 59(10), 1973-1981. doi: 10.1111/epi.14548
- [47] Leu, C., Balestrini, S., Maher, B., Hernández-Hernández, L., Gormley, P., & Hämmäläinen, E. et al. (2015). Genome-wide Polygenic Burden of Rare Deleterious Variants in Sudden Unexpected Death in Epilepsy. *Ebiomedicine*, 2(9), 1063-1070. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.07.005
- [48] Bagnall, R., Crompton, D., & Semsarian, C. (2017). Genetic Basis of Sudden Unexpected Death in Epilepsy. *Frontiers In Neurology*, 8, 348. doi: 10.3389/fneur.2017.00348
- [49] Kishk, N., Sharaf, Y., Ebraheim, A., Baghdady, Y., Alieldin, N., Afify, A., & Eldamaty, A. (2018). Interictal cardiac repolarization abnormalities in people with epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 79, 106-111. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.10.028
- [50] Auerbach, D., McNitt, S., Gross, R., Zareba, W., Dirksen, R., & Moss, A. (2016). Genetic biomarkers for the risk of seizures in long QT syndrome. *Neurology*, 87(16), 1660-1668. doi: 10.1212/wnl.0000000000003056
- [51] Friedman, D., Kannan, K., Faustin, A., Shroff, S., Thomas, C., & Heguy, A. et al. (2018). Cardiac arrhythmia and neuroexcitability gene variants in resected brain tissue from patients with sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP). *Npj Genomic Medicine*, 3(9). doi: 10.1038/s41525-018-0048-5
- [52] Odom, N., & Bateman, L. (2018). Sudden unexpected death in epilepsy, periictal physiology, and the SUDEP-7 Inventory. *Epilepsia*, 59(10), e157-160. doi: 10.1111/epi.14552
- [53] Moseley, B., So, E., Wirrell, E., Nelson, C., Lee, R., Mandrekar, J., & Britton, J. (2013). Characteristics of postictal generalized EEG suppression in children. *Epilepsy Research*, 106(1-2), 123-127. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2013.05.007
- [54] Devinsky, O., Kim, A., Friedman, D., Bedigian, A., Moffatt, E., & Tseng, Z. (2018). Incidence of cardiac fibrosis in SUDEP and control cases. *Neurology*, 91(1), e55-61. doi: 10.1212/wnl.0000000000005740
- [55] Clark, D., & Riney, K. (2016). A population-based post mortem study of sudden unexpected death in epilepsy. *Journal Of Clinical Neuroscience*, 23, 58-62. doi: 10.1016/j.jocn.2015.04.027
- [56] Afandi, D. & Romus, I. (2018). Autopsy findings of SUDEP in adolescence. *The Malaysian Journal of Pathology*, 40(2), 185-189.
- [57] Nascimento, F., Tseng, Z., Palmiere, C., Maleszewski, J., Shiomi, T., McCrillis, A., & Devinsky, O. (2017). Pulmonary and cardiac pathology in sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP). *Epilepsy & Behavior*, 73, 119-125. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.05.013
- [58] Middleton, O., Atherton, D., Bundock, E., Donner, E., Friedman, D., & Hesdorffer, D. et al. (2018). National Association of Medical Examiners position paper: Recommendations for the investigation and certification of deaths in people with epilepsy. *Epilepsia*, 59(3), 530-543. doi: 10.1111/epi.14030
- [59] Ryvlin, P., So, E., Gordon, C., Hesdorffer, D., Sperling, M., & Devinsky, O. et al. (2018). Long-term surveillance of SUDEP in drug-resistant epilepsy patients treated with VNS therapy. *Epilepsia*, 59(3), 562-572. doi: 10.1111/epi.14002
- [60] Devinsky, O., Friedman, D., Duckrow, R., Fountain, N., Gwinn, R., & Leiphart, J. et al. (2018). Sudden unexpected death in epilepsy in patients treated with brain-responsive neurostimulation. *Epilepsia*, 59(3), 555-561. doi: 10.1111/epi.13998
- [61] Rheims, S., Alvarez, B., Alexandre, V., Curot, J., Maillard, L., & Bartolomei, F. et al. (2018). Hypoxemia following generalized convulsive seizures. *Neurology*, 92(3), e183-193. doi: 10.1212/wnl.0000000000006777
- [62] Elzawahry, H., Do, C., Lin, K., & Benbadis, S. (2010). The diagnostic utility of the ictal cry. *Epilepsy & Behavior*, 18(3), 306-307. doi: 10.1016/j.yebeh.2010.04.041
- [63] Ryvlin, P., Ciumas, C., Wisniewski, I., & Beniczky, S. (2018). Wearable devices for sudden unexpected death in epilepsy prevention. *Epilepsia*, 59(S.1), 61-66. doi: 10.1111/epi.14054
- [64] Beniczky, S., Conradsen, I., & Wolf, P. (2018). Detection of convulsive seizures using surface electromyography. *Epilepsia*, 59(S.1), 23-29. doi: 10.1111/epi.14048
- [65] Arends, J. (2018). Movement-based seizure detection. *Epilepsia*, 59(S.1), 30-35. doi: 10.1111/epi.14053
- [66] Bartlam, R., & Mohanraj, R. (2016). Ictal bradyarrhythmias and asystole requiring pacemaker implantation: Combined EEG-ECG analysis of 5 cases. *Epilepsy & Behavior*, 64(Pt.A), 212-215. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.06.026
- [67] Arends, J., Thijs, R., Gutter, T., Ungureanu, C., Cluitmans, P., & Van Dijk, J. et al. (2018). Multimodal nocturnal seizure detection in a residential care setting. *Neurology*, 91(21), e2010-2019. doi: 10.1212/wnl.0000000000006545
- [68] Jory, C., Shankar, R., Coker, D., McLean, B., Hanna, J., & Newman, C. (2016). Safe and sound? A systematic literature review of seizure detection methods for personal use. *Seizure*, 36, 4-15. doi: 10.1016/j.seizure.2016.01.013
- [69] Xu, Z., Ayyappan, S., & Seneviratne, U. (2015). Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP): What do patients think?. *Epilepsy & Behavior*, 42, 29-34. doi: 10.1016/j.yebeh.2014.11.007
- [70] Radhakrishnan, D., Ramanujam, B., Srivastava, P., Dash, D., & Tripathi, M. (2018). Effect of providing sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) information to persons with epilepsy (PWE) and their caregivers-Experience from a tertiary care hospital. *Acta Neurologica Scandinavica*, 138(5), 417-424. doi: 10.1111/ane.12994
- [71] Farrell, K. (2018). SUDEP Challenge Initiative. Retrieved from <https://www.epilepsy.com/living-epilepsy/our-programs/sudep-institute/sudep-challenge-initiative>

## Клінічний випадок синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2

М. А. Тріщинська<sup>\*A,C,F</sup>, В. О. Свистільник<sup>B,D,E</sup>

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Діагностика та диференційна діагностика спадкових хвороб метаболізму в дітей залишається складною. Труднощі діагностики зумовлені тим, що ця категорія патології здебільшого є орфанною (рідкісною), та її виявлення, підтвердження не завжди бувають своєчасними.

**Мета роботи** – удосконалити діагностику синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2, на підставі порівняння з синдромом дефіциту транспортера глюкози I типу (Glut1 Deficiency).

**Матеріали та методи.** Наведений клінічний випадок власних спостережень синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що пов'язаний із мутацією гена PRRT2, який виявлений у процесі диференційної діагностики з синдромом Glut1 Deficiency. Пацієнт перебував на стаціонарному лікуванні в Київській міській дитячій клінічній лікарні № 1.

**Результати.** Основними клінічними симптомами синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією PRRT2, і схожих із ним хвороб (зокрема синдрому Glut1 Deficiency) є напади судом, порушення руху: парези, паралічі, екстрапірамідна симптоматика, порушення координації. Показано, що напади судом, пароксизмальний хореоатетоз, епізоди гіпоглікемії та гіпоглікозахії спільні для цих синдромів. Встановлено, що правильне зіставлення анамнезу та результатів клінічного та медико-генетичного обстеження важливе для диференційної діагностики клінічно схожих спадкових синдромів.

**Висновки.** Диференційна діагностика порушень руху, що супроводжуються у хворих нападами судом, передбачає уточнення етіології, у зв'язку з чим після результатів клінічного обстеження дитини мають бути призначені додаткові параклінічні методи ідентифікації діагнозу. Виявлення гіпоглікемії та гіпоглікозахії диктує необхідність здійснення диференційної діагностики між синдромом сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2, та синдромом Glut1 Deficiency.

Аналіз даних анамнезу, оцінювання результатів клінічного обстеження, зіставлення їх з результатами медико-генетичного обстеження – вирішальні в підтвердженні правильного діагнозу.

### Ключові слова:

судоми, транспортер глюкози I типу, діти.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 853–859

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.6.186722

\*E-mail: Docmarina99@gmail.com

## Клинический случай синдрома семейных судорог с пароксизмальным хореоатетозом, обусловленного мутацией гена PRRT2

М. А. Трещинская, В. А. Свистильник

Диагностика и дифференциальная диагностика наследственных болезней метаболизма у детей остается сложной. Трудности диагностики обусловлены тем, что данная категория патологии в значительной степени орфанна, и ее выявление и подтверждение не всегда бывает своевременным.

**Цель работы** – усовершенствовать диагностику синдрома семейных судорог с пароксизмальным хореоатетозом, обусловленного мутацией гена PRRT2, на основании сравнения с синдромом дефицита транспортера глюкозы I типа (Glut1 Deficiency).

**Материалы и методы.** Представлен клинический случай собственных наблюдений синдрома семейных судорог с пароксизмальным хореоатетозом, обусловленного мутацией PRRT2, который установлен в процессе дифференциальной диагностики с синдромом Glut1 Deficiency. Пациент находился на стационарном лечении в Киевской городской детской клинической больнице № 1.

**Результаты.** Основными клиническими симптомами синдрома семейных судорог с пароксизмальным хореоатетозом, обусловленного мутацией PRRT2, и схожих с ним синдромов (в частности, синдрома Glut1 Deficiency), являются судорожные припадки, нарушения движения: парезы, параличи, экстрапирамидная симптоматика, нарушения координации. Показано, что припадки судорог, пароксизмальное хореоатетоз, эпизоды гипогликемии и гипогликозахии – общие для данных синдромов. Установлена важность правильного анализа анамнестических данных, результатов клинического и медико-генетического обследования для проведения дифференциальной диагностики клинически похожих наследственных синдромов.

**Выводы.** Дифференциальная диагностика нарушений движения, которые сопровождаются у пациентов приступами судорог, предполагает уточнение этиологии, в связи с чем после получения результатов клинического обследования ребенка должны быть назначены дополнительные параклинические методы идентификации диагноза. Установление гипогликемии и гипогликозахии диктует необходимость дифференциальной диагностики синдрома семейных судорог с пароксизмальным хореоатетозом, обусловленного мутацией PRRT2, с синдромом Glut1 Deficiency. Анализ данных анамнеза, оценка результатов клинического обследования и сопоставление их с результатами медико-генетического обследования играет решающую роль в подтверждении правильного диагноза.

### Ключевые слова:

припадки, транспортер глюкозы I типа, дети.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 853–859

## Key words:

seizures,  
glucose transporter  
type I,  
children.

Zaporozhye  
medical journal  
2019; 21 (6), 853–859

## A case report of PRRT2 mutation-associated familial convulsions with paroxysmal choreoathetosis syndrome

M. A. Trishchynska, V. O. Svytilnyk

Diagnostics and differential diagnostics of inherited metabolic diseases in children have still been complicated. The diagnostic difficulties are due to the fact that the diseases are orphan and their recognition is not always timely.

**Objective.** To improve the diagnosis of familial convulsions with paroxysmal choreoathetosis syndrome caused by the PRRT2 gene mutation based on a comparison with glucose transporter type I deficiency syndrome (Glut1 Deficiency Syndrome).

**Materials and methods.** The clinical case of PRRT2 mutation-associated familial convulsions with paroxysmal choreoathetosis syndrome was recognized based on own observations in the process of differential diagnostics with the Glut1 Deficiency syndrome. The patient received inpatient treatment in the Kyiv City Pediatric Clinical Hospital No 1.

**Results.** The main clinical symptoms of PRRT2 mutation-associated familial convulsions with paroxysmal choreoathetosis syndrome and clinically similar diseases, in particular Glut1 Deficiency syndrome, include attacks of seizures, movement disorders: paresis, plegia, paroxysmal dyskinesias, ballismus, tremor, athetosis, dystonia, and ataxia. It has been shown that attacks of seizures, paroxysmal choreoathetosis, hypoglycemia and hypoglycorrachia episodes are common for these syndromes. The importance of anamnestic data analysis, results of clinical and genetic testing for differential diagnostics between similar inherited syndromes has been established.

**Conclusions.** Differential diagnostics of movement disorders accompanied by attacks of seizures in patients includes clarifying the etiology. Therefore, additional paraclinical methods for diagnosis identification have to be prescribed after child's clinical examination. The differential diagnosis between PRRT2 mutation-associated familial convulsions with paroxysmal choreoathetosis syndrome and Glut1 Deficiency syndrome is particularly relevant in case of hypoglycemia and hypoglycorrachia. Anamnestic data analysis, clinic examination and genetic results assessment are necessary to confirm a correct diagnosis.

Питання диференційної діагностики спадкових хвороб метаболізму, зокрема таких, які виявляються руховими, когнітивними, поведінковими та іншими розладами, залишається складним [1,2]. Нові методики в генетиці, зокрема ДНК-діагностика, допомагають виявляти певні генетичні аномалії [3–5].

У патогенезі низки хвороб центральної нервової системи (ЦНС), які на перший погляд мають різну природу, наприклад дисметаболічну, спадкову [6] тощо, ключову роль відіграє судинний чинник, що зумовлений структурно-функціональними порушеннями внутрішнього шару судин – церебрального ендотелію.

Уздовж судинного дерева організму людини ендотелій виявляє структурну та функціональну гетерогенність високого рівня. У ЦНС є поняття про «нейросудинну одиницю» (НСО) – концептуальну структуру, котра пов'язує мікросудини головного мозку з функцією нейронів і зумовлює відповідь на ушкодження [7]. НСО складається з моношару ендотеліальних клітин, що з'єднані щільними контактами, які залягають на базальній мембрані, перичитів, гладеньком'язових клітин, ніжок астроцитів, мікроглії та нервових закінчень. Клітини, що циркулюють у крові: поліморфноядерні клітини, лімфоцити та моноцити, – також є частиною НСО завдяки щільній взаємодії з люмінальною поверхнею ендотеліальних клітин та їхньої ролі в імунному нагляді. Гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) є інтегрованою частиною НСО. ГЕБ утворений високоспеціалізованими ендотеліальними клітинами, ніжками астроцитів і перичитами, які разом становлять динамічний інтерфейс, що відокремлює мозок від системи кровообігу [8]. Церебральний ендотелій у більшій частині головного мозку з'єднаний за допомогою щільних контактів (tight junctions) та виконує функцію «фізичного бар'єра», який запобігає руху молекул між кров'ю та головним мозком [9]. ГЕБ також виступає в ролі «транспортного бар'єра» через специфічні транспортні системи, що регулюють трансцелюлярний рух малих гідрофільних молекул, а також як «метаболічний

бар'єр» в результаті комбінації внутрішньоклітинних та екстрацелюлярних ферментів [10].

Глюкоза – основне джерело енергії в головному мозку ссавців, а постійна наявність цього субстрату – необхідна умова для нормального функціонування мозку [11,12]. У головному мозку глюкоза швидко окислюється (катаболізується), що зумовлює зниження градієнта гексози в напрямі від крові до міжклітинної рідини мозку. Транспорт глюкози в мозок забезпечується білками полегшеного транспортування. Транспорт глюкози з крові відбувається через ендотеліоцити ГЕБ, плазматичні мембрани нейронів і глії.

Є кілька напрямів взаємодії між нейронами та астроцитами. Так, глюкоза, що використовується астроцитами, утилізується до лактату, який вивільняється в міжклітинний простір [13]. Лактат з інтерстиціального простору захоплюється нейронами та є додатковим джерелом енергії. Астроцити формують перший клітинний шлях глюкози до мозку, які ідеально розташовані для забезпечення зв'язку між активністю нейронів і захопленням глюкози.

Розрізняють кілька ізоформ транспортних систем глюкози GLUT, що регулюють рівень глюкози у головному мозку: GLUT 1 (Human Genome Organization, HUGO, складає SLC2A1), 3 (SLC2A3) і 8 (SLC2A8) [14]. GLUT 1 – універсальний переносник глюкози, який рясно представлений у мозку; він експресується ексклюзивно в мозкових бар'єрах, особливо на люмінальній мембрані ендотеліальних клітин паренхіматозних судин мозку та хоріоїдального сплетіння. Експресія на мембрані GLUT 1 контролюється гіпоксія-регулювальним фактором 1 (hypoxia-inducible factor 1 – HIF-1), який є ключовим регулятором адаптації клітин до зниженого парціального тиску кисню [15]. Білок HIF-1α нестабільний при фізіологічному рівні кисню і постійно руйнується під впливом проліл гідроксилаз [16]. Під час гіпоксії білок HIF-1α стабілізується в результаті зниження активності проліл гідроксилаз, зв'язується з білком HIF-1β, переміщується

в ядро, в результаті чого активується гіпоксія-опосередковані cis-елементи (зони ДНК, які не кодують, але регулюють транскрипцію розташованих поряд генів) [17]. Отже, білок HIF-1 активує кілька генів, які залучені у процес ангиогенезу та регуляції метаболізму, включно з генами, які регулюють захоплення та утилізацію глюкози. Так, є дані, що транзиторна ішемія мозку супроводжується підвищенням рівня HIF-1 та експресією GLUT 1 [18].

Експресія GLUT 1 у ГЕБ перебуває під впливом астроцитів і гліальних клітин. Іншими словами, коли мозок потребує підвищеного вмісту глюкози, експресія GLUT 1 на поверхні ендотеліальних клітин мозку збільшується. Виявили, що астроцити в умовах гіпоксії вивільняють гуморальний фактор, який підвищує експресію GLUT 1 на поверхні ендотеліальних клітин мозку [19].

Рівень глюкози у спинномозковій рідині становить 50–60 % від рівня глюкози у плазмі крові, що створює від'ємний градієнт концентрації глюкози в лікворі. Встановлено, що існує Na<sup>+</sup>-незалежна система переносу глюкози з капілярів хоріоїдального сплетіння в цереброспинальну рідину [20].

Синдром сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією PRRT2, характеризується повторними нападами фокальних судом у періоді немовляти, однак їхньою особливістю є сімейний характер і відносно доброякісний перебіг. Рухові порушення: формування парезів і паралічів, гіперкінези за типом дискінезій – доповнюють клінічну картину цього синдрому. Синдром дефіциту транспортера глюкози типу 1 (в англійській мові літературі – Glut1 Deficiency Syndrome) є генетичною хворобою, під час якої порушується транспорт глюкози через ГЕБ і виникають розлади церебрального метаболізму [11]. Однак питання диференційної діагностики синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2, та синдрому Glut1 Deficiency в англійській літературі висвітлено недостатньо.

## Мета роботи

Удосконалити діагностику синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2, на підставі порівняння з синдромом дефіциту транспортера глюкози I типу (Glut1 Deficiency).

## Матеріали і методи дослідження

Виявлення мутації гена SLC2A1 на підставі сучасних генетичних методів підтверджує діагноз синдрому Glut1 Deficiency. Але в 10–15 % таких хворих, за даними наукової літератури, відзначена мутація залишається неідентифікованою [21]. Синтез Glut1 протеїну забезпечує ген SLC2A1, який знаходиться на першій парі хромосом. Мутації цього гена призводять до синтезу Glut1 протеїну в недостатній кількості та передусім до порушення транспорту глюкози через ГЕБ.

У зв'язку з цим, у хворих із синдромом дефіциту транспортера глюкози типу 1 розвиваються чималі метаболічні розлади, як-от недостатнє постачання глюкози до головного мозку, що призводить до порушень його нормального росту та функціонування. Наслідком церебрального дефіциту глюкози в пацієнтів є напади судом,

альтернувальна геміплегія, головний біль, дизартрія, опосклонус, мікроцефалія, порушення контролю рухової активності, зокрема атаксія, гіперкінези, труднощі навчання та комунікацій.

Спектр проявів синдрому дефіциту транспортера глюкози типу 1 за фенотипом включає класичний синдром, пароксизмальну форму (дискінезія, що викликана фізичним навантаженням), епілепсію (первинно відома як дистонія 18 DYT18), пароксизмальний хореоатетоз зі спастичністю (раніше відомий як дистонія 9 DYT9), атипичну дитячу форму без епілепсії, пароксизмальні неепілептичні явища, включаючи тимчасову атаксію, хореоатетоз, дистонію та переміжну геміплегію.

Класична форма характеризується раннім початком судом (до 6 місяців), затримкою неврологічного розвитку, набутими мікроцефаліями та важкими руховими розладами. При цій формі розрізняють кілька типів судом: генералізовані тонічні або клонічні, фокальні, міоклонічні, атипичні абсанси, атонічні та такі, що не класифікуються. Напади найчастіше виявляються як кивки і стрімкі рухи тулуба та кінцівок, міоклонус. Частота, тяжкість і тип судом відрізняються у хворих і не пов'язані з тяжкістю захворювання. Відомо, що для епілептичних нападів при синдромі Glut1 Deficiency характерна фармакорезистентність до антиепілептичних препаратів [22].

Тяжкі розлади руху, що характеризуються атаксією, дистонією, хореєю, можуть виникати в будь-якій комбінації та можуть бути безперервними, пароксизмальними або постійними з коливаннями тяжкості, на які впливають фактори довкілля (голодування або інфекції).

Порушення рухової функції в дітей із синдромом Glut1 Deficiency спостерігають у формі розладів функцій екстрапірамідної системи (пароксизмальні дискінезії, балізм, тремор, атетоз, дистонія), порушень координації рухів (атаксія), які впливають на якість моторних функцій. Тяжкість і ступінь виразності названих симптомів коливається протягом доби і залежить від часу приймання їжі дитиною, зокрема найбільшу обмеженість рухової активності пацієнтів із синдромом Glut1 Deficiency спостерігають вранці натще після пробудження [21].

Клінічно представлений симптомокомплекс обґрунтовує необхідність диференціальної діагностики синдрому Glut1 Deficiency з іншою патологією.

Синдром сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2, має аутосомно-домінантний тип успадкування. Для цього синдрому характерні клінічні прояви: епізоди кінезіогенної дискінезії (ЕКД), сімейні доброякісні судоми в періоді немовляти та сімейні судоми з пароксизмальним хореоатетозом [23]. ЕКД характеризуються раптовими мимовільними рухами у відповідь на раптові довільні рухи. Такі гіперкінези виявляються переважно як дистонії або пароксизмальний хореоатетоз, частота яких буває чималою. Їхній дебют відбувається найчастіше в дитячому віці. Сімейні доброякісні судоми в періоді немовляти і сімейні судоми з пароксизмальним хореоатетозом мають, як правило, сприятливий перебіг і позитивну відповідь на протиепілептичну терапію з ремісією нападів до 2-річного віку. Однак особливості клінічного прояву, вік дебюту та ступінь виразності симптомів можуть суттєво варіювати в різних сім'ях. Батьки дітей нерідко є носіями мутантного гена [23].

Діагностика синдрому Glut1 Deficiency передбачає оцінювання рівня глюкози в лікворі: зниження рівня співвідношення глюкози ліквор/кров менше ніж 0,4 є типовим для цього діагнозу. Діагноз Glut1 Deficiency встановлюють у пробандів із відповідними клінічними симптомами, нормальною концентрацією глюкози у крові, концентрацією глюкози у лікворі <60 мг/дл та ідентифікацією гетерозиготного варіанта (або, рідше, двоалельних патогенних варіантів) у SLC2A1 шляхом молекулярного генетичного тестування. Протиепілептичні препарати часто неефективні при лікуванні епілептичних нападів, що зумовлені нейродегенеративними хворобами [21,22]. Своєчасне призначення кетогенної дієти при синдромі Glut1 Deficiency запобігає затримкам розвитку, розладам поведінки, забезпечує поліпшення рухової активності та пізнавальних функцій дітей, сприяє досягненню контролю епілептичних нападів.

Диференціальна діагностика синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією PRRT2, та клінічно схожого з ним синдрому Glut1 Deficiency включає:

- виявлення інших причин гіпоглікозахії, зокрема умов, що викликають хронічну або переривчасту гіпоглікемію (наприклад, сімейний гіперінсулінізм);
  - усі причини виникнення новоутворень у новонароджених і набутої мікроцефалії; ранній розвиток синдрому Ретта, синдрому Ангельмана та інфантильних форм нейронального цероїд-ліпофусцинозу;
  - синдром опсоклонус-міоклонус [24,25];
  - криптогенні епілептичні енцефалопатії з затримками розвитку;
  - сімейні епілепсії та неепілептичні пароксизми з аутосомно-домінантним типом успадкування [6];
  - порушення рухової функції, включаючи дистонію.
- Наведено клінічний випадок власних спостережень синдрому сімейних судом із пароксизмальним хорео-

атетозом, що зумовлений мутацією гена PRRT2, виявленого у процесі диференційної діагностики з синдромом Glut1 Deficiency. Пацієнт перебував на стаціонарному лікуванні в Київській міській дитячій клінічній лікарні № 1 – клінічній базі кафедри дитячої неврології та медико-соціальної реабілітації НМАПО імені П. Л. Шупика. Батьки дитини дали інформовану згоду на здійснення обстежень і лікування, що зафіксовано в історії хвороби. Всі обстеження пацієнту виконали згідно з етичними нормами.

## Результати

Дитина, хлопчик К., віком 4,5 місяця, надійшов у відділення анестезіології, реанімації та інтенсивної терапії з частими парціальними нападами з адверсією очей і голови вправо. Напади супроводжувалися втратою свідомості, ціанозом шкіри, тахікардією. В ургентному порядку епілептичні напади припинено внутрішньовенним введенням бензодіазепінів (сібазону) в дозі 0,5 мг/кг; після введення препарату вони відновлювалися через кожні 4–5 годин.

З анамнезу життя відомо, що дитина народилася доношеною, перебіг перинатального періоду – без ускладнень. До дебюту хвороби руховий, передмовленевий, пізнавальний розвиток хлопчика відповідав віку.

**Неврологічний статус.** З боку черепно-мозкової інервації: симетричні середнього розміру зіниці зі зниженою реакцією на світло, мімична мускулатура симетрична, рефлекс із піднебіння та глотковий рефлекс живі. Визначили знижену рухову активність, м'язову гіпотонію, високі сухожилльні та періостальні рефлекси; симптом Бабінського не виявили. Рефлекс Россолімо позитивний. Періодично в руках – гіперкінези в формі хореоатетозу. Шкіра бліда, серцева діяльність ритмічна, тахікардія.



Рис. 1. Електроенцефалограма.

Результати люмбальної пункції у спинномозковій рідині: 3 клітини – лімфоцити – в полі зору, білок – 0,2 г/л, глюкоза – 1,26 ммоль/л. Під час біохімічного обстеження крові в той самий час рівень глюкози становив 4,1 ммоль/л. Інші біохімічні показники крові (загальний білок, білірубін, трансаміназа, амілаза, креатинфосфокіназа, лактатдегідрогеназа, лактат, лужна фосфатаза) відповідали нормі. Патологічні зміни показників коагулограми не виявили.

При щоденному моніторингу рівня глюкози крові двічі на день протягом 2 тижнів двічі зафіксували епізоди гіпоглікемії (зниження рівня глюкози у крові до 1,5 ммоль/л), які корегували внутрішньовенним веденням 40 % розчину глюкози.

У невідкладному порядку виконали СКТ головного мозку, структурні порушення не зафіксували.

Електроенцефалографічне обстеження: визначена пік-хвильова активність у лобних, центральнотім'яних і скроневих відведеннях (рис. 1).

Результати обстежень крові на інфекції TORCH-комплексу – негативні.

УЗД органів черевної порожнини та нирок: патологічні зміни не виявили.

На МРТ ідентифікували помірні кірково-підкіркові атрофії головного мозку переважно в лобних і скроневих частках мозку.

*Клінічне спостереження за пацієнтом у неврологічному відділенні.* Виявлена загальмованість, зниження м'язового тону, знижена рухова активність, які спостерігали переважно до приймання натще їжі. З дебютом нападів судом дитина втратила навички рухового розвитку: можливість самостійно перевертатися, брати в руки іграшки, навички передмовленневого розвитку (гуління).

Виконали ДНК-діагностику в лабораторії Invitae 1400 16<sup>th</sup> Street San Francisco, CA 94103. Під час медико-генетичного обстеження використали методику Next Generation Sequences (NGS-тест). Таке обстеження у зразку крові пацієнта передбачало аналіз 187 генів, зокрема і SLC2A1 та PRRT2 гени.

За результатами медико-генетичного обстеження, мутації гена SLC2A1 не визначили. Однак метод NGS показав єдину мутацію: патогенний варіант c.649dup (p.Arg217Profs\*8), ідентифікований у PRRT2 гені.

Пацієнту призначена базова протиепілептична терапія (препарат вальпроат натрію в дозі 15 мг/кг per os), протягом 5 діб при поступовому підвищенні дози вальпроату до 20 мг/кг отримано повний контроль нападів. Дитина виписана додому в задовільному стані.

## Обговорення

Дебют хвороби в пацієнта з частих парціальних нападів, втрата дитиною навичок рухового та пізнавального розвитку, зафіксовані гіперкінези у вигляді хореоатетозу, нерівномірність рухової активності протягом доби, що пов'язана з періодами харчування, результати лабораторних обстежень (епізод гіпоглікозахії, низький рівень співвідношення глюкози ліквор/кров – 0,31; двічі виявлена гіпоглікемія), а також структурні зміни головного мозку на МРТ диктували необхідність здійснення

диференційної діагностики клінічно схожих синдромів, зокрема синдрому сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що пов'язаний із мутацією PRRT2, та синдрому Glut1 Deficiency.

У результаті медико-генетичного обстеження (ДНК-діагностика) виявили патогенний варіант мутації гена PRRT2, що пояснювало описаний спектр неврологічних симптомів у пацієнта, включаючи напади судом у формі фокальних, гіперкінези у вигляді хореоатетозу, зміни рухової активності дитини, зміни м'язового тону, втрату навичок рухового та передмовленневого розвитку на тлі частих нападів судом [23].

Отже, вирішальним критерієм диференційної діагностики наведених клінічно схожих синдромів виявився метод медико-генетичного обстеження. Для генетичного синдрому PRRT2 типовим є ранній дебют і висока частота нападів судом, однак характерною є і висока ефективність протиепілептичної терапії.

Нині катамнез спостереження за пацієнтом становить 4 місяці: напади судом відсутні, епізоди хореоатетозу істотно зменшилися, їх спостерігають рідше. У хлопчика відновлюється руховий і пізнавальний розвиток.

У фаховій літературі описаний сприятливий перебіг синдрому, що пов'язаний із мутацією гена PRRT2 [23]. Це збігається з даними власного спостереження. Доцільне здійснення медико-генетичного обстеження батьків пацієнта та інших членів його сім'ї.

Отже, ідентифікація генетичної мутації при متابолічних хворобах дає можливість не тільки чітко визначити синдром, але й уточнити особливості перебігу й очікувану відповідь на призначену протисудомну терапію.

## Висновки

1. Диференційна діагностика порушень руху, що супроводжуються у хворих нападами судом, передбачає уточнення етіології, в зв'язку з чим після результатів клінічного обстеження дитини мають бути призначені додаткові параклінічні методи ідентифікації діагнозу.

2. Виявлення поруч із клінічними симптомами гіпоглікемії та гіпоглікозахії диктує необхідність здійснення диференційної діагностики між синдромом сімейних судом із пароксизмальним хореоатетозом, що зумовлений мутацією PRRT2, і синдромом Glut1 Deficiency.

3. Аналіз даних анамнезу, оцінювання результатів клінічного обстеження, зіставлення їх із результатами медико-генетичного обстеження є вирішальними в підтвердженні правильного діагнозу.

**Перспективи подальших досліджень** полягають в аналізі та вивченні клінічних випадків, провідною симптоматикою яких є порушення руху та мовленнєві розлади.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 11.03.2019

Після доопрацювання / Revised: 12.05.2019

Прийнято до друку / Accepted: 24.05.2019

## Відомості про авторів:

Тришинська М. А., д-р мед. наук, доцент каф. неврології № 1, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-1022-0635

Свистильник В. О., канд. мед. наук, доцент каф. дитячої неврології та медико-соціальної реабілітації, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-8547-8182

## Сведения об авторах:

Тришинская М. А., д-р мед. наук, доцент каф. неврологии № 1, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Свистильник В. А., канд. мед. наук, доцент каф. детской неврологии и медико-социальной реабилитации, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

## Information about authors:

Trishchynska M. A., MD, PhD, DSc, Associate Professor of Neurology Department No 1, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Svystilnyk V. O., MD, PhD, Associate Professor of Pediatric Neurology and Medical and Social Rehabilitation Department, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

## Список літератури

- [1] Айкарди Ж., Ганефельд Ф. Наследственные дегенеративные заболевания. *Заболевания нервной системы у детей* / под ред. Ж. Айкарди, М. Бакса, К. Гиллберга. 3 изд. Т. 1. Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. С. 360-420.
- [2] Emily de los Reyes. Neurodevelopmental disorders. *Manual of Pediatric Neurology* / ed. by P. Weisleder. New Jersey: World scientific Publishing Co. Pte. Ltd, 2012. pp. 81-87. doi: <https://doi.org/10.1142/7914>
- [3] Cognitive decline in classic infantile Pompe disease: An underacknowledged challenge / Ebbink B. et al. *Neurology*. 2016. Vol. 86. Issue 13. P. 1260-1261. doi: [10.1212/wnl.0000000000002523](https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000002523)
- [4] Crosiers D., Blaumeiser B., Van Goethem G. Spectrum of Movement Disorders in 18p Deletion Syndrome. *Movement Disorders Clinical Practice*. 2018. Vol. 6. Issue 1. P. 70-73. doi: [10.1002/mdc3.12707](https://doi.org/10.1002/mdc3.12707)
- [5] Marques Matos C., Alonso I., Leão M. Diagnostic yield of next-generation sequencing applied to neurological disorders. *Journal Of Clinical Neuroscience*. 2019. Vol. 67. P. 14-18. doi: [10.1016/j.jocn.2019.06.041](https://doi.org/10.1016/j.jocn.2019.06.041)
- [6] Свистильник В.О., Коноплянко Т.В. Пароксизмальний кінезіогенний хореоатетоз у дитячому віці. *Сучасна педіатрія*. 2015. № 6. С. 119-120.
- [7] Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology / Neuwelt E. et al. *Nature Reviews Neuroscience*. 2011. Vol. 12. Issue 3. P. 169-182. doi: [10.1038/nrn2995](https://doi.org/10.1038/nrn2995)
- [8] Del Zoppo G. Aging and the neurovascular unit. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*. 2012. Vol. 1268. Issue 1. P. 127-133. doi: [10.1111/j.1749-6632.2012.06686.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06686.x)
- [9] Iadecola C. The Pathobiology of Vascular Dementia. *Neuron*. 2013. Vol. 80. Issue 4. P. 844-866. doi: [10.1016/j.neuron.2013.10.008](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.008)
- [10] Abbott N., Rönnbäck L., Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*. 2006. Vol. 7. P. 41-53. doi: [10.1038/nrn1824](https://doi.org/10.1038/nrn1824)
- [11] Тришинська М. А., Дзяк Л. А., Глумчер Ф. С. Инфузионная терапия при неврологических заболеваниях. *Инфузионно-трансфузионная терапия* / под ред. Ф. С. Глумчера, Е. Н. Клигуненко. Киев: Издательство Заславский А, 2018. С. 366-400.
- [12] Simpson I., Carruthers A., Vannucci S. Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *Journal Of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2007. Vol. 27. P. 1766-1791. doi: [10.1038/sj.jcbfm.9600521](https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600521)
- [13] Striking differences in glucose and lactate levels between brain extracellular fluid and plasma in conscious human subjects: effects of hyperglycemia and hypoglycemia / Abi-Saab W. et al. *Journal Of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2002. Vol. 22. P. 271-279. doi: [10.1097/00004647-200203000-00004](https://doi.org/10.1097/00004647-200203000-00004)
- [14] GLUT8, a Novel Member of the Sugar Transport Facilitator Family with Glucose Transport Activity / Doege H. et al. *Journal Of Biological Chemistry*. 2000. Vol. 275. P. 16275-16280. doi: [10.1074/jbc.275.21.16275](https://doi.org/10.1074/jbc.275.21.16275)

- [15] Semenza G. Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1. *Biochemical Journal*. 2007. Vol. 405. Issue 1. P. 1-9. doi: [10.1042/bj20070389](https://doi.org/10.1042/bj20070389)
- [16] Semenza G. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *Journal Of Applied Physiology*. 2000. Vol. 88. Issue 4. P. 1474-1480. doi: [10.1152/jappl.2000.88.4.1474](https://doi.org/10.1152/jappl.2000.88.4.1474)
- [17] Bruick R. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science*. 2001. Vol. 294. Issue 5545. P. 1337-1340. doi: [10.1126/science.1066373](https://doi.org/10.1126/science.1066373)
- [18] Chavez J., LaManna J. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: potential role of insulin-like growth factor-1. *The Journal Of Neuroscience*. 2002. Vol. 22. Issue 20. P. 8922-8931. doi: [10.1523/jneurosci.22-20-08922.2002](https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-20-08922.2002)
- [19] Factor(s) released by glucose-deprived astrocytes enhance glucose transporter expression and activity in rat brain endothelial cells / Régina A. et al. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 2001. Vol. 1540. Issue 3. P. 233-242. doi: [10.1016/s0167-4889\(01\)00133-1](https://doi.org/10.1016/s0167-4889(01)00133-1)
- [20] Deane R., Segal M. The transport of sugars across the perfused choroid plexus of the sheep. *The Journal Of Physiology*. 1985. Vol. 362. Issue 1. P. 245-260. doi: [10.1113/jphysiol.1985.sp015674](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1985.sp015674)
- [21] Glucose transporter 1 deficiency in the idiopathic generalized epilepsies / Arsov T. et al. *Annals Of Neurology*. 2012. Vol. 72. Issue 5. P. 807-815. doi: [10.1002/ana.23702](https://doi.org/10.1002/ana.23702)
- [22] Dudzinska M. Dieta w chorobach neurologicznych. *Postepy w diagnostyce i leczeniu chorob układu nerwowego u dzieci / pod red. S. Jozwiaka*. Lublin: Wydawnictwo Bifolium, 2017. P. 143-159.
- [23] Ebrahimi-Fakhari D., Moufawad El Achkar C., Klein C. PRRT2-Associated Paroxysmal Movement Disorders. *GeneReviews*, 2018. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK475803/>
- [24] Pike M. Opsoclonus-myooclonus syndrome. *Handbook of Clinical Neurology. Pediatric Neurology Part II*. 2013. Vol. 112. P. 1209-1211. doi: [10.1016/b978-0-444-52910-7.00042-8](https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52910-7.00042-8)
- [25] Paroxysmal eye-head movements in Glut1 deficiency syndrome / Pearson T. et al. *Neurology*. 2017. Vol. 88. Issue 17. P. 1666-1673. doi: [10.1212/wnl.0000000000003867](https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000003867)

## References

- [1] Ajkardi, Zh., & Ganefeld, F. (2013). Nasledstvennyye degenerativnyye zabolovaniya [Hereditary degenerative diseases]. Ajkardi, Zh., Baks, M., Gillberg, K. (Eds). *Diseases of the Nervous System in Childhood*. (3rd ed.). Moscow, pp. 360-420. [in Russian].
- [2] Emily de los Reyes. (2012). Neurodevelopmental disorders. *Manual of Pediatric Neurology*. P. Weisleder. (Ed). New Jersey, pp. 81-87. doi: <https://doi.org/10.1142/7914>
- [3] Ebbink, B., Poelman, E., Plug, I., Lequin, M., van Doorn, P., & Aarsen, F. et al. (2016). Cognitive decline in classic infantile Pompe disease: An underacknowledged challenge. *Neurology*, 86(13), 1260-1261. doi: [10.1212/wnl.0000000000002523](https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000002523)
- [4] Crosiers, D., Blaumeiser, B., & Van Goethem, G. (2018). Spectrum of Movement Disorders in 18p Deletion Syndrome. *Movement Disorders Clinical Practice*, 6(1), 70-73. doi: [10.1002/mdc3.12707](https://doi.org/10.1002/mdc3.12707)
- [5] Marques Matos, C., Alonso, I., & Leão, M. (2019). Diagnostic yield of next-generation sequencing applied to neurological disorders. *Journal Of Clinical Neuroscience*, 67, 14-18. doi: [10.1016/j.jocn.2019.06.041](https://doi.org/10.1016/j.jocn.2019.06.041)
- [6] Svystilnyk, V. O., & Konoplianko, T. V. (2015). Paroksyzmalnyi kinезіогенний khoreoatetoz u dytiachomu viysi [Paroxysmal kinesigenic choreoatetosis in children's age]. *Sovremennaya pediatriya*, 6, 119-120. [in Ukrainian].
- [7] Neuwelt, E., Bauer, B., Fahlke, C., Fricker, G., Iadecola, C., & Jani-gro, D. et al. (2011). Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(3), 169-182. doi: [10.1038/nrn2995](https://doi.org/10.1038/nrn2995)
- [8] del Zoppo, G. (2012). Aging and the neurovascular unit. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1268(1), 127-133. doi: [10.1111/j.1749-6632.2012.06686.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06686.x)
- [9] Iadecola, C. (2013). The Pathobiology of Vascular Dementia. *Neuron*, 80(4), 844-866. doi: [10.1016/j.neuron.2013.10.008](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.008)
- [10] Abbott, N., Rönnbäck, L., & Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*, 7, 41-53. doi: [10.1038/nrn1824](https://doi.org/10.1038/nrn1824)
- [11] Treshhinskaja, M. A., Dzjak, L. A., & Glumcher, F. S. Infuzionnaja terapija pri nevrologicheskix zabolovaniyah [Infusion therapy for neurological diseases]. Glumchera, F. S., Kligunenko, E. N. (Eds). *Infusion-transfusion therapy*. Kiev, pp. 366-400. [in Russian].
- [12] Simpson, I., Carruthers, A., & Vannucci, S. (2007). Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *Journal Of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 27, 1766-1791. doi: [10.1038/sj.jcbfm.9600521](https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600521)
- [13] Abi-Saab, W., Maggs, D., Jones, T., Jacob, R., Srihari, V., & Thompson, J. et al. (2002). Striking differences in glucose and lactate levels between brain extracellular fluid and plasma in conscious human



- subjects: effects of hyperglycemia and hypoglycemia. *Journal Of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 22, 271-279. doi: 10.1097/00004647-200203000-00004
- [14] Doege, H., Schürmann, A., Bahrenberg, G., Brauers, A., & Joost, H. (2000). GLUT8, a Novel Member of the Sugar Transport Facilitator Family with Glucose Transport Activity. *Journal Of Biological Chemistry*, 275, 16275-16280. doi: 10.1074/jbc.275.21.16275
- [15] Semenza, G. (2007). Oxygen-dependent regulation of mitochondrial respiration by hypoxia-inducible factor 1. *Biochemical Journal*, 405(1), 1-9. doi: 10.1042/bj20070389
- [16] Semenza, G. (2000). HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *Journal Of Applied Physiology*, 88(4), 1474-1480. doi: 10.1152/jappl.2000.88.4.1474
- [17] Bruick, R. (2001). A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science*, 294(5545), 1337-1340. doi: 10.1126/science.1066373
- [18] Chavez, J., & LaManna, J. (2002). Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: potential role of insulin-like growth factor-1. *The Journal Of Neuroscience*, 22(20), 8922-8931. doi: 10.1523/jneurosci.22-20-08922.2002
- [19] Régina, A., Morchoisne, S., Borson, N., McCall, A., Drewes, L., & Roux, F. (2001). Factor(s) released by glucose-deprived astrocytes enhance glucose transporter expression and activity in rat brain endothelial cells. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 1540(3), 233-242. doi: 10.1016/s0167-4889(01)00133-1
- [20] Deane, R., & Segal, M. (1985). The transport of sugars across the perfused choroid plexus of the sheep. *The Journal Of Physiology*, 362(1), 245-260. doi: 10.1113/jphysiol.1985.sp015674
- [21] Arsov, T., Mullen, S., Rogers, S., Phillips, A., Lawrence, K., & Damiano, J. et al. (2012). Glucose transporter 1 deficiency in the idiopathic generalized epilepsies. *Annals Of Neurology*, 72(5), 807-815. doi: 10.1002/ana.23702
- [22] Dudzinska, M. (2017). Dieta w chorobach neurologicznych. *Postępy w diagnostyce i leczeniu chorób układu nerwowego u dzieci [Progress in the diagnosis and treatment of nervous system disorders in children]* Jozwiaka, S. (Ed). Lublin, pp. 143-159. [in Polish].
- [23] Ebrahimi-Fakhari, D., Moufawad El Achkar, C., & Klein, C. (2018). PRRT2-Associated Paroxysmal Movement Disorders. *GeneReviews*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK475803/>.
- [24] Pike, M. (2013). Opsoclonus-myoclonus syndrome. *Handbook of Clinical Neurology. Pediatric Neurology Part II*, 112, 1209-1211. doi: 10.1016/b978-0-444-52910-7.00042-8
- [25] Pearson, T., Pons, R., Engelstad, K., Kane, S., Goldberg, M., & De Vivo, D. (2017). Paroxysmal eye-head movements in Glut1 deficiency syndrome. *Neurology*, 88(17), 1666-1673. doi: 10.1212/wnl.0000000000003867

## Позитивный неврологический результат у ребенка после внутригоспитальной остановки сердца

Л. Д. Танцюра\*<sup>1,A-E</sup>, И. В. Киселева<sup>1,A-E</sup>, А. В. Беляев<sup>1,E,F</sup>, В. В. Орел<sup>1,B</sup>, Н. В. Трикаш<sup>2,B</sup>,  
В. Н. Скляр<sup>2,B</sup>, И. М. Колосова<sup>2,B</sup>

<sup>1</sup>Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина,

<sup>2</sup>Киевская детская городская клиническая больница № 1, Украина

A – концепция и дизайн исследования; B – сбор данных; C – анализ и интерпретация данных; D – написание статьи;  
E – редактирование статьи; F – окончательное утверждение статьи

### Ключевые слова:

остановка сердца, сердечно-легочная реанимация, неврологические исходы, дети, интенсивная терапия.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 860–864

DOI:  
10.14739/2310-1210.  
2019.6.186724

\*E-mail:  
nicu72.anesth@  
gmail.com

### Ключові слова:

зупинка серця, серцево-легенева реанімація, неврологічні результати, діти, інтенсивна терапія.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 6(117). – С. 860–864

### Key words:

cardiac arrest, in-hospital cardiac arrest, pediatrics, neurocognitive outcomes, intensive care.

Zaporozhye medical journal  
2019; 21 (6), 860–864

Представлен случай позитивного неврологического исхода после внутригоспитальной остановки сердца у ребенка с сепсисом и врожденным пороком развития головного мозга. Проанализированы факторы, влияющие на выживаемость и неврологические последствия реанимационных мероприятий у детей. Приведены данные специализированной литературы о различии исходов при внегоспитальной и внутригоспитальной остановке сердца.

## Позитивний неврологічний результат у дитини після внутрішньогоспітальної зупинки серця

Л. Д. Танцюра, І. В. Кисельова, А. В. Біляєв, В. В. Орел, М. В. Трикаш, В. М. Скляр, І. М. Колосова

Наведено випадок позитивного неврологічного результату після внутрішньогоспітальної зупинки серця в дитини з сепсисом і вродженою вадою розвитку головного мозку. Проаналізували фактори, що впливають на виживання та неврологічні наслідки реанімаційних заходів у дітей. Наведені відомості фахової літератури щодо розходжень результатів при позагоспітальній і внутрішньогоспітальній зупинці серця.

## Positive neurologic outcome in a child after in-hospital cardiac arrest

L. D. Tantsiura, I. V. Kyselova, A. V. Biliaiev, V. V. Orel, M. V. Trykash, V. M. Skliar, I. M. Kolosova

The case of positive neurologic outcome in a child after in-hospital cardiac arrest is presented in the article. Factors influencing the survival and neurologic outcome following CPR in children are analysed. Literature data on the differences in outcomes after out-of-hospital and in-hospital cardiac arrest are given.

У детей, выживших после остановки сердца, существует высокий риск плохого неврологического исхода. Выживаемость и функциональное восстановление при внутригоспитальной остановке сердца лучше в сравнении с внегоспитальной. Это обусловлено возможностью постоянного мониторинга функций организма, быстрой диагностикой критического состояния, моментальным реагированием на ситуацию, наличием профессиональных навыков у людей, оказывающих помощь. На исходы влияют предшествующее состояние ребенка, причина остановки сердца, исходный сердечный ритм, сроки введения первой дозы адреналина, длительность реанимации, концентрация лактата в плазме крови в раннем постасистолическом периоде [6, 10]. В представленном случае демонстрируется позитивный неврологический исход после двукратной внутригоспитальной остановки сердца у ребенка с сепсисом и врожденным пороком развития мозга.

## Клинический случай

Ребенок Б., 5 лет, госпитализирован в педиатрическое отделение многопрофильной клинической больницы по поводу двусторонней пневмонии и кардита. На

протяжении первых двух суток терапии состояние с отрицательной динамикой, в связи с нарастанием дыхательной недостаточности ребенок был переведен в отделение интенсивной терапии (ОИТ). При поступлении на фоне лихорадки отмечен судорожный припадок с нарушением сознания, гемодинамики, оксигенации. Для обеспечения адекватной оксигенации и вентиляции ребенку начата искусственная вентиляция легких (ИВЛ). При исследовании ликвора менингит исключен. Клинические данные и показатели дополнительных методов обследования свидетельствовали о тяжелом повреждении легких инфекционного генеза (лихорадка, при проведении ИВЛ – зависимость от высокого среднего давления в дыхательных путях, MAP (mean airway pressure), 16–18 см вод. ст., высокой фракции кислорода во вдыхаемой смеси, FiO<sub>2</sub> 0,7–0,8, для поддержания сатурации 90–95 %, концентрация прокальцитонина в плазме крови – 18 нг/мл, на рентгенограмме – неоднородное диффузное снижение прозрачности обоих легочных полей). Поэтому по жизненным показаниям ребенку назначена эмпирическая антибактериальная терапия с включением меропенема, левофлоксацина и ванкомицина. Гемодинамику поддерживали инфузией кристаллоидных растворов и инотропов с коррекцией

доз вводимых препаратов под контролем показателей концентрации лактата, сатурации гемоглобина кислородом в венозной крови, кислотно-основного состояния (КОС), данных эхокардиографии (сократимость миокарда, ударный объем, сердечный выброс). Исследования уровня лактата, КОС, оценку гемодинамики с помощью эхокардиографии проводили на протяжении суток неоднократно, по мере необходимости.

На третьи сутки госпитализации в ОИТ в связи с отсутствием положительной динамики со стороны легких и для исключения нарушения мозгового кровообращения ребенку произведена компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки и мультиспиральная КТ головного мозга. Получены признаки двусторонней полисегментарной интерстициальной инфильтрации, двустороннего плеврального выпота, выпота в полость перикарда, а также существенное уменьшение размеров тимуса и признаки экссудативной формы гайморита. Неожиданной находкой было обнаружение врожденного порока развития головного мозга – агенезии мозолистого тела, которое не проявлялось клинически.

Во время транспортировки для проведения КТ легких и головного мозга у ребенка дважды, с интервалом в 2 часа, возникла остановка сердца. Реанимационные мероприятия в обоих случаях в течение 1 минуты на фоне проведения ИВЛ с фракцией кислорода во вдыхаемой смеси  $\text{FiO}_2$  1,0, дыхательным объемом 8–9 мл/кг, частотой дыхания 30 дыханий в 1 минуту, непрямым массажем сердца с частотой 100–120 компрессий в минуту и однократным внутривенным введением адреналина в дозе 10 мкг/кг привели к эффективному восстановлению сердечной деятельности.

Объем мониторинга состояния ребенка и терапии раннего постасистолического периода основывался на рекомендациях Американской Ассоциации Сердца по ведению пациентов в раннем периоде после восстановления циркуляции [5]. Основные направления раннего постасистолического периода: контроль температуры ядра тела (целевой показатель – 36,8–37,5 °С), поддержание адекватной перфузии тканей под контролем концентрации лактата (целевой показатель – <2 ммоль/л), КОС (целевой показатель рН – 7,35–7,45), сатурации венозной крови (целевой показатель – >70 %), данных эхокардиографии (ударный объем, сократимость миокарда, сердечный выброс, целевой показатель – 2,8–5,0 л/мин·м<sup>2</sup>), показателей артериального давления и частоты сердечных сокращений, ИВЛ под контролем КОС и газов крови с поддержанием нормокапнии (целевой показатель в венозной крови – 38–48 мм рт. ст.) и нормальной оксигенации (целевой показатель в венозной крови – 40–60 мм рт. ст.), поддержание нормогликемии, контроль и терапия судорожного синдрома. На протяжении первых трех суток течения постасистолического синдрома ребенок находился в состоянии комы, которая была обусловлена как реперфузионными изменениями в головном мозге, так и инфузией тиопентала натрия в дозе 2 мг/кг·час. Спустя 18 часов инфузии после постепенного снижения дозы до 0,5 мг/кг·час тиопентал натрия успешно отменен. На протяжении трех суток проводили мониторинг температуры ядра тела. В течение всего периода контроля температура в прямой кишке составляла 37,0–37,8 °С, т. е. сохранялась нормотермия

как один из рекомендованных режимов поддержания температуры ядра тела в раннем постасистолическом периоде, согласно рекомендациям Американской ассоциации сердца [5]. На четвертые сутки после перенесенной остановки сердца началось постепенное восстановление сознания.

В связи с отсутствием позитивной клинической динамики по данным бактериологического исследования и данным, полученным на КТ легких, произведена смена антибактериальной терапии с учетом результатов микробиологического тестирования. Произведена санация гайморовых полостей. После смены антибиотиков отмечена положительная динамика со стороны легких. Через 9 суток проведения ИВЛ ребенок успешно отлучен от аппаратной респираторной поддержки, еще через трое суток переведен в педиатрическое отделение. Госпитализация в ОИТ составила 12 суток.

**Отдельные лабораторные исследования.** На четвертые сутки госпитализации в ОИТ при смыве из носоглотки методом ПЦР выделен вирус гриппа В и антитела к вирусу гриппа В. Тест на ВИЧ отрицательный. Туберкулез исключен. В аспирате из трахеи и посева культуры крови, отобранных в день госпитализации в ОИТ, выделен *Enterococcus faecalis*.

**Клинический диагноз при переводе из ОИТ**  
Основной. Сепсис смешанной этиологии (вирусно-бактериальный, вирус гриппа В). Двусторонняя пневмония, кардит, пансинусит.

**Осложнения.** Дыхательная недостаточность III ст., недостаточность кровообращения II–III ст., судорожный синдром. Постасистолический синдром.

**Сопутствующий.** Врожденный порок развития головного мозга: агенезия мозолистого тела.

**Результаты оценки когнитивных, поведенческих и двигательных функций**

Оценка нейрокогнитивных функций проведена в педиатрическом отделении на 14 сутки после остановки сердца с помощью Денверской скрининговой шкалы оценки развития II [8]. Эту шкалу используют для проведения скрининга когнитивных и поведенческих нарушений у детей дошкольного возраста. Она включает оценку 4 категорий: социальный контакт, тонкие моторные навыки, речевое развитие и грубые моторные навыки. Отдельно оценивали поведение ребенка во время тестирования.

**Поведение.** Во время исследования ребенок спокойно идет на контакт, проявляет интерес к окружающему, в начале тестирования спокойно и правильно, соответственно возрасту, отвечает на просьбы и выполняет пункты тестирования. Присутствует элемент стеснительности. К окончанию тестирования концентрация внимания снижается.

**Индивидуальное социальное развитие.** Ребенок выполняет все пункты, предложенные для оценки данного подуровня, кроме одного – самостоятельное приготовление кукурузных хлопьев. Со слов мамы, в семье не употребляют в пищу такой продукт. Однако ребенок самостоятельно проявляет инициативу по участию в выполнении некоторой домашней работы, любит общение с животными. Со сверстниками идет на контакт с осторожностью.

**Тонкая моторно-адаптивная деятельность** в тесте в основном оценивается навыками рисования. Со

слов мамы, ребенок умеет лепить фигурки, но не умеет рисовать. При попытке научить ребенка отказывается выполнять какие-либо действия, связанные с рисованием. То есть мелкая моторика страдала еще до госпитализации в стационар. Во время тестирования в ответ на просьбу что-либо нарисовать ребенок берет ручку в руку только после того, когда было показано, как это следует сделать. Попытки нарисовать круг или квадрат после демонстрации, как это надо сделать, были неудачными.

**Речевое развитие.** Речь в основном понятная. Речевое развитие по некоторым пунктам оценивается как «развитие с опережением» (ребенок уверенно выполняет задания, которым владеют только 25 % сверстников). Называет большее количество цветов, чем рекомендовано тестом. Знает счет больше, чем рекомендовано тестом (считает до десяти вместо рекомендованных пяти).

**Грубые моторные навыки** (прыгает, стоит на одной ноге, идет, приставляя носок к пятке) в интересах ребенка не оценивали, поскольку на момент осмотра отмечен астенический синдром с быстрой утомляемостью. Вместе с тем, ребенок ходит и самостоятельно перемещается по палате.

Результаты тестирования предполагают умеренное отставание психомоторного развития, поскольку по одному из четырех подуровней имеются два и более «негативных» ответа. Преимущественно страдает тонкая моторно-адаптивная деятельность. Однако эти нарушения отмечены до госпитализации в стационар и остановки сердца. Клинические признаки агенезии мозолистого тела не зафиксированы. Из этого можно сделать вывод, что двукратная остановка сердца с интервалом 2 часа и с длительностью реанимационных мероприятий в обоих случаях на протяжении одной минуты не повлияли на когнитивные навыки и поведение ребенка.

### Обсуждение

Представленный случай интересен, на наш взгляд, благоприятным неврологическим выходом после двукратной остановки сердца на фоне сепсиса, тяжелой респираторной и гемодинамической недостаточности и врожденного порока развития мозга.

Позитивный неврологический исход в описанном случае объясняем нахождением ребенка во время остановки сердца в условиях возможности быстрой диагностики критического состояния и своевременного оказания помощи на профессиональном уровне, быстрым восстановлением эффективного кровообращения, корректным ведением раннего постасистолического периода.

Исходы сердечно-легочной реанимации (СЛР) у детей с внутригоспитальной и внегоспитальной остановкой сердца существенно отличаются [10]. Выживаемость и функциональное восстановление после внегоспитальной остановки сердца хуже [11, 12]. Это обусловлено отсутствием быстрой ответной реакции и профессиональных навыков у людей, оказывающих помощь при остановке сердца. С другой стороны, наличие непрерывного мониторинга функций организма, быстрое реагирование в ответ на возникновение

критического состояния и профессионально оказанная помощь способствуют более высокой выживаемости при внутригоспитальной остановке сердца [1].

Один из факторов риска плохого неврологического исхода при внегоспитальной остановке сердца – длительность реанимации более 30 мин [11]. Однако результаты многоцентрового проспективного исследования, проведенного в США, показали, что в случаях проведения СЛР в условиях ОИТ более 1 минуты выживаемость увеличивается на 45 %, и у 89 % выживших детей зафиксирован благоприятный неврологический исход [4].

Анализ данных реестра Американской ассоциации сердца по сердечно-легочной реанимации показал, что на выживаемость и неврологические исходы после внутригоспитальной остановки сердца влияют сроки введения первой дозы адреналина после асистолии. Оптимальное время – в течение первой минуты от момента фиксации асистолии. Увеличение этого временного интервала уменьшает шансы на восстановление циркуляции, ухудшает выживаемость и неврологические исходы у выживших [3].

На исходы больных после остановки сердца также влияет частота введения адреналина. В Руководстве по сердечно-легочной реанимации Американской ассоциации сердца рекомендованный интервал времени между введениями адреналина составляет 3–5 мин [5]. Однако ретроспективный анализ данных реестра Американской ассоциации сердца по сердечно-легочной реанимации показал, что при более длительном интервале между введениями адреналина от 8 до <10 минут отмечена наиболее высокая выживаемость после внутригоспитальной остановки сердца (сравнивали интервалы 1–5 мин и от >5 до <8 мин) [9].

При анализе неврологических функций через 12 месяцев после остановки сердца обнаружен широкий спектр исходов с высоким риском развития неврологических расстройств. Несмотря на то, что большинство детей продемонстрировали значительное снижение нейрорепродуктивных функций, около ¼ детей к 12 месяцам достигли функционального восстановления в широком диапазоне границ нормы [2, 13].

На выживаемость и неврологическую функцию после внутригоспитальной остановки сердца у детей, находящихся в коме и нуждающихся в проведении ИВЛ, влияют исходный вид нарушения ритма, количество доз адреналина, интервал между введениями адреналина, применение открытого массажа сердца, использование ЭКМО и концентрация лактата в плазме крови в раннем постасистолическом периоде [2]. Более высокая выживаемость через 12 месяцев после остановки сердца зафиксирована при проведении открытого массажа сердца и в том случае, когда интервал между введениями адреналина составил от 3 до <5 минут. Открытый массаж сердца у детей используют редко и в основном в ОИТ кардиохирургического профиля. Несмотря на увеличение выживаемости при использовании открытого массажа сердца, спустя 12 месяцев после остановки сердца у выживших детей отмечено ухудшение неврологических исходов.

Более низкая частота выживаемости и плохой неврологический исход зафиксированы в тех случаях, когда

исходно зареєстрована асистолія, а не якої-либо іншої варіант порушення ритму, введені більше 4 доз адреналіну, відзначена більше висока концентрація лактату в плазмі крові в ранньому постасистолічному періоді. Лактат-ацидоз після зупинки серця являється результатом неадекватної доставки кисню та анаеробного метаболізму, що виникають перед і в час асистолії. Збільшений рівень лактату після зупинки серця асоціюється з зменшенням виживаності та поганими неврологічними результатами після зупинки серця при оцінці через 12 місяців [10].

Неожиданної находки в описуваному випадку було виявлення на КТ у дитини вродженого пороку розвитку мозку – агенезії мозолистого тіла. Такий порок може бути ізольованим або поєднуватися з іншою патологією центральної нервової системи. Клінічні прояви залежать, перш за все, від того, чи є додаткові вроджені пороки розвитку мозку або інші набуті пошкодження (наслідки перинатальної гіпоксії-ішемії). Згідно з даними мета-аналізу, опублікованого в *Pediatrics* [7], дві треті дітей з ізольованою агенезією мозолистого тіла мають нормальне нейрокогнітивне розвиток. Однак у цих дітей можливі порушення мелкої та грубої моторної діяльності, координації рухів, можуть страждати мовні та когнітивні навички, що частково спостерігали в описаному випадку.

## Выводы

Унікальність представленої ситуації в тому, що у дитини з вродженим пороком розвитку головного мозку та двічі перенесеною зупинкою серця на фоні важкого перебігу сепсису збереглися нейрокогнітивні та рухові навички. На позитивний результат впливало те, що зупинка серця відбулася в умовах лікувального закладу. Можливість швидкої діагностики критичного стану та миттєвої реакції фахівцями в поєднанні з коректною наступною терапією раннього постасистолічного періоду сприяють не тільки збереженню життя, але й функціональному відновленню неврологічного статусу у дітей, перенеслих зупинку серця.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 25.03.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 24.04.2019

## Сведения об авторах:

Танцюра Л. Д., канд. мед. наук, доцент каф. дитячої анестезіології та інтенсивної терапії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, г. Київ, Україна.  
ORCID ID: 0000-0002-8294-4122

Кисельова І. В., асистент каф. дитячої анестезіології та інтенсивної терапії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, г. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9083-8223

Біляєв А. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дитячої анестезіології та інтенсивної терапії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, г. Київ, Україна.  
ORCID ID: 0000-0003-3913-2900

Орел В. В., канд. мед. наук, доцент каф. медицини неотложних станів, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, г. Київ, Україна.

Трикаш Н. В., зав. відділенням анестезіології та інтенсивної терапії, Київська міська дитяча клінічна лікарня № 1, Україна.

Скляр В. М., лікар відділення анестезіології та інтенсивної терапії, Київська міська дитяча клінічна лікарня № 1, Україна.

Колосова І. М., лікар відділення анестезіології та інтенсивної терапії, Київська міська дитяча клінічна лікарня № 1, Україна.

## Відомості про авторів:

Танцюра Л. Д., канд. мед. наук, доцент каф. дитячої анестезіології та інтенсивної терапії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Кисельова І. В., асистент каф. дитячої анестезіології та інтенсивної терапії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Біляєв А. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дитячої анестезіології та інтенсивної терапії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Орел В. В., канд. мед. наук, доцент каф. медицини невідкладних станів, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Трикаш Н. В., зав. відділення анестезіології та інтенсивної терапії, Київська міська дитяча клінічна лікарня № 1, Україна.

Скляр В. М., лікар відділення анестезіології та інтенсивної терапії, Київська міська дитяча клінічна лікарня № 1, Україна.

Колосова І. М., лікар відділення анестезіології та інтенсивної терапії, Київська міська дитяча клінічна лікарня № 1, Україна.

## Information about authors:

Tantsiura L. D., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pediatric Anesthesiology and Critical Care, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Kyselova I. V., MD, Assistant of the Department of Pediatric Anesthesiology and Critical Care, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Biliaiev A. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatric Anesthesiology and Critical Care, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Orel V. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Emergency Medicine, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Trykash M. V., MD, Head of the Department of Anesthesiology and Critical Care, Municipal Children's Hospital No 1, Kyiv, Ukraine.

Skliar V. M., MD, Physician of the Department of Anesthesiology and Critical Care, Municipal Children's Hospital No 1, Kyiv, Ukraine.

Kolosova I. M., MD, Physician of the Department of Pediatric Anesthesiology and Critical Care, Municipal Children's Hospital No 1, Kyiv, Ukraine.

## Список литературы

- [1] Орел В. В., Кисельова І. В. Принципи надання допомоги хворим і постраждалим дітям в умовах відділення екстреної (невідкладної) медичної допомоги (огляд літератури). *Медицина невідкладних станів*. 2017. № 8. С. 22-25. doi: 10.22141/2224-0586.8.87.2017.121323
- [2] Танцюра Л. Д. Нейропротекція у новонароджених. Обзор сучасних доказательств. *Біль, знеболення та інтенсивна терапія*. 2017. № 4. С. 29-36. doi: https://doi.org/10.25284/2519-2078.4(81).2017.119242
- [3] Time to epinephrine and survival after pediatric in-hospital cardiac arrest / L. Andersen et al. *JAMA*. 2015. Vol. 314. Issue 8. P. 802-810. doi: 10.1001/jama.2015.9678

- [4] Incidence and outcomes of cardiopulmonary resuscitation in PICUs / R. Berg et al. *Critical Care Medicine*. 2015. Vol. 44. Issue 4. P. 798-808. doi: 10.1097/ccm.0000000000001484
- [5] Part 12: Pediatric advanced life support / A. de Caen et al. *Circulation*. 2015. Vol. 132. Issue 18. Suppl. 2. P. S526-S542. doi: 10.1161/cir.0000000000000266
- [6] Caprarola S., Kudchadkar S., Bembea M. Neurologic outcomes following care in the pediatric intensive care unit. *Current Treatment Options In Pediatrics*. 2017. Vol. 3. Issue 3. P. 193-207. doi: 10.1007/s40746-017-0092-x
- [7] Outcomes associated with isolated agenesis of the corpus callosum: a meta-analysis / F. D'Antonio et al. *Pediatrics*. 2016. Vol. 138. Issue 3. P. e20160445. doi: 10.1542/peds.2016-0445
- [8] The Denver II: a major revision and restandardization of the Denver Developmental Screening Test / W. K. Frankenburg et al. *Pediatrics*. 1992. Vol. 89. Issue 1. P. 91-97.
- [9] Epinephrine dosing interval and survival outcomes during pediatric in-hospital cardiac arrest / D. Hoyme et al. *Resuscitation*. 2017. Vol. 117. P. 18-23. doi: 10.1016/j.resuscitation.2017.05.023
- [10] Paediatric in-hospital cardiac arrest: Factors associated with survival and neurobehavioural outcome one year later / K. Meert et al. *Resuscitation*. 2018. Vol. 124. P. 96-105. doi: 10.1016/j.resuscitation.2018.01.013
- [11] Pediatric out-of-hospital cardiac arrest characteristics and their association with survival and neurobehavioral outcome\* / K. Meert et al. *Pediatric Critical Care Medicine*. 2016. Vol. 17. Issue 12. P. e543-550. doi: 10.1097/pcc.0000000000000969
- [12] Long-term outcomes following pediatric out-of-hospital cardiac arrest\*. E. Michiels et al. *Pediatric Critical Care Medicine*. 2013. Vol. 14. Issue 8. P. 755-760. doi: 10.1097/pcc.0b013e31829763e2
- [13] Neurobehavioural outcomes in children after In-Hospital cardiac arrest / B. Slomine et al. *Resuscitation*. 2018. Vol. 124. P. 80-89. doi: 10.1016/j.resuscitation.2018.01.002

## References

- [1] Orel, V., & Kyselova, I. (2018). Pryntsyropy nadannia dopomohy khvorym i postrazhdalym ditiam v umovakh viddlennia ekstrenoi (nevidkladnoi) medychnoi dopomohy (ohliad literatury) [Principles of providing of care to ill and injured children in emergency care unit (literature review)]. *Emergency medicine*, 8(87), 23-25. doi: 10.22141/2224-0586.8.87.2017.121323 [in Ukrainian].
- [2] Tancjura, L. D. (2017). Nejroprotekcija u novorozhdennyh. Obzor sovremennyh dokazatelstv [Neuroprotection in newborns. Review of current evidence]. *Pain, anaesthesia & intensive care*, 4, 29-36. doi: https://doi.org/10.25284/2519-2078.4(81).2017.119242 [in Russian].
- [3] Andersen, L., Berg, K., Saindon, B., Massaro, J., Raymond, T., & Berg, R. et al. (2015). Time to epinephrine and survival after pediatric in-hospital cardiac arrest. *JAMA*, 314(8), 802-810. doi: 10.1001/jama.2015.9678
- [4] Berg, R., Nadkarni, V., Clark, A., Moler, F., Meert, K., & Harrison, R. et al. (2015). Incidence and outcomes of cardiopulmonary resuscitation in PICUs. *Critical Care Medicine*, 44(4), 798-808. doi: 10.1097/ccm.0000000000001484
- [5] de Caen, A., Berg, M., Chameides, L., Gooden, C., Hickey, R., & Scott, H. et al. (2015). Part 12: Pediatric advanced life support. *Circulation*, 132(18 Suppl. 2), S526-S542. doi: 10.1161/cir.0000000000000266
- [6] Caprarola, S., Kudchadkar, S., & Bembea, M. (2017). Neurologic outcomes following care in the pediatric intensive care unit. *Current Treatment Options In Pediatrics*, 3(3), 193-207. doi: 10.1007/s40746-017-0092-x
- [7] D'Antonio, F., Pagani, G., Familiari, A., Khalil, A., Sagies, T., & Malinger, G. et al. (2016). Outcomes associated with isolated agenesis of the corpus callosum: a meta-analysis. *Pediatrics*, 138(3), e20160445. doi: 10.1542/peds.2016-0445
- [8] Frankenburg, W. K., Dodds, J., Archer, P., Shapiro, H., Bresnick, B. (1992). The Denver II: a major revision and restandardization of the Denver Developmental Screening Test. *Pediatrics*, 89(1), 91-97.
- [9] Hoyme, D., Patel, S., Samson, R., Raymond, T., Nadkarni, V., & Gaies, M. et al. (2017). Epinephrine dosing interval and survival outcomes during pediatric in-hospital cardiac arrest. *Resuscitation*, 117, 18-23. doi: 10.1016/j.resuscitation.2017.05.023
- [10] Meert, K., Telford, R., Holubkov, R., Slomine, B., Christensen, J., & Berger, J. et al. (2018). Paediatric in-hospital cardiac arrest: Factors associated with survival and neurobehavioural outcome one year later. *Resuscitation*, 124, 96-105. doi: 10.1016/j.resuscitation.2018.01.013
- [11] Meert, K., Telford, R., Holubkov, R., Slomine, B., Christensen, J., & Dean, J. et al. (2016). Pediatric out-of-hospital cardiac arrest characteristics and their association with survival and neurobehavioral outcome\*. *Pediatric Critical Care Medicine*, 17(12), e543-550. doi: 10.1097/pcc.0000000000000969
- [12] Michiels, E., Dumas, F., Quan, L., Selby, L., Copass, M., & Rea, T. (2013). Long-term outcomes following pediatric out-of-hospital cardiac