



ВОСТОЧНО ЕВРОПЕЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

#10(62), 2020 часть 1

Восточно Европейский научный журнал
(Санкт-Петербург, Россия)

Журнал зарегистрирован и издается в России
В журнале публикуются статьи по всем
научным направлениям.
Журнал издается на русском, английском и
польском языках.

Статьи принимаются до 30 числа каждого
месяца.

Периодичность: 12 номеров в год.

Формат - А4, цветная печать

Все статьи рецензируются

Бесплатный доступ к электронной версии
журнала.

Редакционная коллегия

Главный редактор - Адам Барчук

Миколай Вишневецки

Шимон Андржеевский

Доминик Маковски

Павел Левандовски

Ученый совет

Адам Новицкий (Варшавский университет)

Михал Адамчик (Институт
международных отношений)

Питер Коэн (Принстонский университет)

Матеуш Яблоньски (Краковский
технологический университет имени
Тадеуша Костюшко)

Петр Михалак (Варшавский университет)

Ежи Чарнецкий (Ягеллонский университет)

Колуб Френнен (Тюбингенский
университет)

Бартош Высоцкий (Институт
международных отношений)

Патрик О'Коннелл (Париж IV Сорбонна)

Мацей Качмарчик (Варшавский
университет)

#10(62), 2020 part 1

Eastern European Scientific Journal
(St. Petersburg, Russia)

The journal is registered and published in Russia
The journal publishes articles on all scientific
areas.

The journal is published in Russian, English
and Polish.

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

Periodicity: 12 issues per year.

Format - A4, color printing

All articles are reviewed

Free access to the electronic version of journal

Editorial

Editor-in-chief - Adam Barczuk

Mikolaj Wisniewski

Szymon Andrzejewski

Dominik Makowski

Pawel Lewandowski

Scientific council

Adam Nowicki (University of Warsaw)

Michal Adamczyk (Institute of International
Relations)

Peter Cohan (Princeton University)

Mateusz Jablonski (Tadeusz Kosciuszko
Cracow University of Technology)

Piotr Michalak (University of Warsaw)

Jerzy Czarnecki (Jagiellonian University)

Kolub Frennen (University of Tübingen)

Bartosz Wysocki (Institute of International
Relations)

Patrick O'Connell (Paris IV Sorbonne)

Maciej Kaczmarczyk (University of Warsaw)

Давид Ковалик (Краковский технологический университет им. Тадеуша Костюшко)

Питер Кларквуд (Университетский колледж Лондона)

Игорь Дзедзич (Польская академия наук)

Александр Клиmek (Польская академия наук)

Александр Роговский (Ягеллонский университет)

Кехан Шрайнер (Еврейский университет)

Бартош Мазуркевич (Краковский технологический университет им. Тадеуша Костюшко)

Энтони Маверик (Университет Бар-Илан)

Миколай Жуковский (Варшавский университет)

Матеуш Маршалек (Ягеллонский университет)

Шимон Матысяк (Польская академия наук)

Михал Невядомский (Институт международных отношений)

Главный редактор - Адам Барчук

1000 экземпляров.

Отпечатано в ООО «Логика+»

198320, Санкт-Петербург,

Город Красное Село,

ул. Геологическая,

д. 44, к. 1, литера А

«Восточно Европейский Научный Журнал»

Электронная почта: info@eesa-journal.com,

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

Dawid Kowalik (Kracow University of Technology named Tadeusz Kościuszko)

Peter Clarkwood (University College London)

Igor Dzedzic (Polish Academy of Sciences)

Alexander Klimek (Polish Academy of Sciences)

Alexander Rogowski (Jagiellonian University)

Kehan Schreiner (Hebrew University)

Bartosz Mazurkiewicz (Tadeusz Kościuszko Cracow University of Technology)

Anthony Maverick (Bar-Ilan University)

Mikołaj Żukowski (University of Warsaw)

Mateusz Marszałek (Jagiellonian University)

Szymon Matysiak (Polish Academy of Sciences)

Michał Niewiadomski (Institute of International Relations)

Editor in chief - Adam Barczuk

1000 copies.

Printed by Logika + LLC

198320, Region: St. Petersburg,

Locality: Krasnoe Selo Town,

Geologicheskaya 44 Street,

Building 1, Litera A

"East European Scientific Journal"

Email: info@eesa-journal.com,

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

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Kehayova G.K., Zlateva Sn.Z., Zgurova N.T. BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL ANALYSIS OF RATS TREATED WITH VERAPAMIL OVERDOSE AND RESUSCITATED WITH LIPID EMULSION	4
Казловский И.С., Соловьева А.В., Зинченко А.И., Новикова О.Н., Ломако Ю.В. СОЗДАНИЕ ШТАММА, ПРОДУЦИРУЮЩЕГО СУБЪЕДИНИЦУ ТЕРМОЛАБИЛЬНОГО ТОКСИНА <i>ESCHERICHIA COLI</i>	9
Bulatovski A.B., Zinchenko A.I. PRODUCTION OF HUMAN ANNEXIN A5 FUSED WITH BACTERIAL ADENOSINE CATABOLIC ENZYMES	13
Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Скрипченко Н.В., Кравченко Н.В. ТРОФІЧНІ ТА ГОРМОНАЛЬНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ОНТОГЕНЕЗУ <i>ACTINIDIACHINENSIS</i> VAR. <i>DELICIOSA</i> (A.CHEV.) <i>IN VITRO</i> НА ЕТАПІ МУЛЬТИПЛІКАЦІЇ	17

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

Babak O.Ya., Aleksandrova T.N. CLINICAL SIGNIFICANCE OF PENTRAXIN-3 AND C-REACTIVE PROTEIN IN THE DIFFERENTIATION OF STAGES OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE	25
Барзилович А. Д. ДИНАМІКА РОЗВИТКУ МЕРЕЖІ СПЕЦІАЛІЗОВАНИХ ЛІКАРЕНЬ, ЯК СУБ'ЄКТІВ РИНКУ МЕДИЧНИХ ПОСЛУГ ...	29
Фіщенко В.О., Браніцький О.Ю., Боцул О.В., Карпінська О.Д., Карпінський М.Ю. КОМПЛЕКСНА ТЕХНОЛОГІЯ ВІДНОВЛЕННЯ СИМЕТРИЧНОСТІ ХОДЬБИ ПІСЛЯ ЕНДОПРОТЕЗУВАННЯ КУЛЬШОВОГО СУГЛОБУ	36
Shulyak A., Gusakovsky S. INTRAVESICAL CHEMOTHERAPY FOR NON-MUSCLE INVASIVE BLADDER CANCER	40
Исанбаева Л.М. РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ПРОТОКОЛОВ КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ МИОМЫ МАТКИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ МИОМЫ МАТКИ.	45
Ковида Н.Р. СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ОЦІНКУ НЕСПРОМОЖНОСТІ РУБЦЯ НА МАТЦІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	49
Kaniowska L.V., Liakhovych O.D. APPLICATION OF CLINICAL SITUATIONAL PROBLEMS IN THE STUDY OF ELECTIVE COURSE "AGE ASPECTS OF PHARMACOTHERAPY" BY STUDENTS	55
Фіщенко В.О., Маммадов Л.А. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ОТРИМАНИХ З ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ В ЛІКУВАННІ ВНУТРІШНЬОСУГЛОБОВИХ ПЕРЕЛОМІВ ДИСТАЛЬНОГО ВІДДІЛУ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ	58
Казакова А.В., Дуфинец И.Е., Мариновская В.Б. МЕСТО ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА В ПРОБЛЕМЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ НЕУДАЧ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭНДОМЕТРИЯ. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	61

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Kehayova G.K.

Doctor of Toxicology

*Assistant professor in the Department of Pharmacology,
Toxicology and Pharmacotherapy
Medical University - Varna, Bulgaria*

Zlateva Sn.Z.

Professor of Toxicology

*Head of the Clinic for Intensive Treatment of Acute Poisoning
and Toxic Allergies at the Military Medical Academy - Varna, Bulgaria*

Zgurova N.T.

Doctor of Pathology and Cytopathology

*Assistant professor in the Department of General and Clinical Pathology,
Forensic Medicine and Deontology,
Medical University - Varna, Bulgaria*

BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL ANALYSIS OF RATS TREATED WITH VERAPAMIL OVERDOSE AND RESUSCITATED WITH LIPID EMULSION

Габриэла Красиминова Кехайова

Доктор токсикологии

*Ассистент кафедры фармакологии,
токсикологии и фармакотерапии,*

Медицинский университет - Варна, Болгария

Снежана Златева

Профессор токсикологии

*Руководитель клиники интенсивного
лечения острых отравлений и токсикоаллергии,
Военно-медицинская академия - Варна, Болгария*

Недялка Тодорова Згурова

Доктор патологии и цитопатологии

*Ассистент кафедры общей и клинической патологии,
съедобной медицины и деонтологии,
Медицинский университет - Варна, Болгария*

БИОХИМИЧЕСКИЙ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПЕРЕДОЗИРОВКУ ВЕРАПАМИЛОМ И РЕАНИМИРОВАННЫХ ЛИПИДНОЙ ЭМУЛЬСИЕЙ

Summary. Since 2008, lipid emulsions have been used successfully as part of standard therapy for acute lipophilic drug intoxications at a bolus dose of 1.5 ml/kg lipid emulsion 20% for one minute, followed by an infusion of 0.25 ml/kg/min for 20 -60 minutes. The high dose of lipid emulsion carries a risk of serious side effects, which is why many doctors are afraid to use it, despite reports of its positive effect as an antidote. The study demonstrated the efficacy and safety of lipid emulsion administered as an antidote at the recommended and 7-fold higher dose in acute intoxication of rats with Verapamil.

100% survival was observed in rats treated with different doses of lipid emulsion. The high dose of lipid emulsion 10 ml/kg shows greater efficiency in terms of cardioprotection. Lipid emulsion at doses of 1.5 ml/kg and 10 ml/kg are safe in terms of fat metabolism, liver and kidney parameters, proven by laboratory and histological analysis.

Аннотация. С 2008 года липидные эмульсии успешно используются в рамках стандартной терапии острых липофильных лекарственных интоксикаций при болюсной дозе 1,5 мл/кг липидной эмульсии 20% в минуту с последующей инфузией 0,25 мл/кг/мин в течение 20-60 минут. Высокая доза липидной эмульсии несет риск серьезных побочных эффектов, из-за чего многие врачи боятся использовать её, несмотря на сообщения о её положительном действии в качестве антидота. Исследование продемонстрировало эффективность и безопасность липидной эмульсии, вводимой в качестве антидота при рекомендуемой и 7-кратной более высокой дозе при острой интоксикации крыс верапамилом.

100% выживаемость наблюдалась у крыс, получавших разные дозы липидной эмульсии. Высокая доза липидной эмульсии 10 мл / кг показывает большую эффективность с точки зрения кардиопротекции. Липидная эмульсия в дозах 1,5 мл / кг и 10 мл / кг безопасна с точки зрения жирового обмена, показателей печени и почек, подтвержденных лабораторными и гистологическими анализами.

Key words: lipid emulsion, Verapamil, rats

Ключевые слова: липидная эмульсия, верапамил, крысы.

Introduction. Acute drug intoxications are a serious problem worldwide. The most common overdoses are neuroleptics, antidepressants and cardiovascular drugs. Many of these drugs do not have a specific antidote in case of overdose and can cause fatal neurological and cardiovascular complications, which requires the introduction into routine practice of more effective treatments such as intravenous lipid emulsions (LE).

The dose determined by the American Society of Regional Anesthesia (ASRA) to treat local anesthetic systemic toxicity (LAST) and lipophilic drug intoxications is a bolus of LE 20% 1.5 ml/kg per minute, followed by a continuous intravenous infusion of 0.25 ml/kg/min for 20-60 minutes until circulation is restored [1].

The use of high doses of LE and the high infusion rate are associated with an increased risk of side effects such as fat overload syndrome, hypertriglyceridemia, pulmonary embolism, pancreatitis and others, which is why many doctors are afraid to use it, despite reports of its positive therapeutic effect in acute lipophilic intoxications. There is a lack of information about the mechanism of its action, the possible risks associated with its use, dosage, duration of administration, short-term and long-term effects.

Aims. Study of the efficacy and possible side effects of LE as an antidote to acute Verapamil intoxication in rats and demonstration of its safety with short-term use.

Materials and methods. The experiments were performed on 30 healthy male Wistar rats with an average weight of 243 g, provided by the Medical University "Prof. Dr. P. Stoyanov" - Varna. The animals are kept in standard plastic cages, in a well-ventilated room, under controlled environmental conditions (temperature 25 ± 2 °C), 12-hour light / dark cycle, with free and unrestricted access to food and water.

Biochemical, histological, instrumental and statistical methods were used to assess the effectiveness of LE safety.

The biochemical analysis of the plasma of the animals was performed in a Specialized Medical Diagnostic Laboratory. Histological methods included analysis of necropsy material from heart, liver and lung from each group of rats. Digital photos of the cases were taken using the Leica Aperio Scan Scope AT2 device (Aperio Technologies, Vista, CA) with subsequent analysis of the scanned images with ImageScope V12.1.0.5029 (Aperio).

Statistical methods include descriptive statistics, parametric variation analysis, Bernoulli method, two-way comparison of relative proportions of qualitative indicators, null (H0) and non-zero (alternative H1) hypothesis.

In all performed statistical analyzes, an acceptable level of confidence interval $P < 0.05$ is assumed, divided into three ascending classes: $P < 0.05$, $P < 0.01$ (high significance) and $P < 0.001$ (very high significance).

The following experimental substances were used: Isocor® solution for injection 2.5 mg/ml - Verapamil hydrochloride - calcium channel blocker to cause arrhythmias and conduction disorders (Sopharma AD, Bulgaria)

Intralipid® lipid emulsion 20% 500 ml (Fresenius Kabi AB)

Saline 0.9% 500 ml (B. Braun Melsungen AG)

Midazolam Panpharma solution for injection 5 mg/ml (Panpharma Laboratories, France)

Design of the conducted laboratory experiment:

The animals are divided into six groups as follows:

Group I - healthy controls receiving only 1.5 ml/kg saline

II. group - rats treated with LE 1.5 ml/kg 5 minutes before injection of Verapamil overdose 15 mg/kg

III. group - rats treated with Verapamil overdose 15 mg/kg and treated with LE 1.5ml/kg

IV. group - rats treated with Verapamil overdose 15 mg/kg and treated with LE 10 ml/kg

V. group of rats treated with Verapamil overdose 15 mg/kg

All drugs were administered intraperitoneally. The blood needed for the biochemical examination is taken from the sublingual vein and through a heart puncture. An overdose of verapamil per kilogram body weight (15 mg/kg) was used to assess the severity of intoxication [2].

Verapamil is a drug that is used very often due to its broad spectrum of action: supraventricular arrhythmias, hypertension, ischemic heart disease, dysmenorrhea, migraine and others. A number of authors consider it to be the most dangerous of the group of calcium channel blockers due to its strong cardiodepressant effect [3]. Its overdose is difficult to treat and is associated with high mortality despite timely therapy.

In recent years, Verapamil toxicity has been successfully treated with the inclusion of LE in standard therapy [4]. LEs are already present in the latest guidelines and checklists as a mandatory component in the treatment of Verapamil toxicity [5]

The dose of LE was selected as determined by Weinberg and approved by ASRA, used as an antidote for life-threatening lipophilic drug intoxications, namely a bolus of 1.5 ml/kg [6]. A group of rats treated with a toxic dose of Verapamil and treated with a high dose of LE 10 ml/kg was made to be able to compare the effects and survival at different dosages.

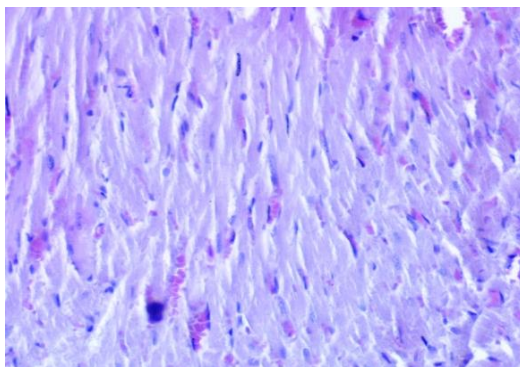
Results of the histological analysis. The rats treated with Verapamil died on average 43.33 minutes after acute Verapamil intoxication, after which organs were taken for histological analysis. All other animals treated with different doses of LE had 100% survival.

On the fourth day after Verapamil poisoning, from each group rats were euthanized and necropsy material from heart, lung, and liver was taken.

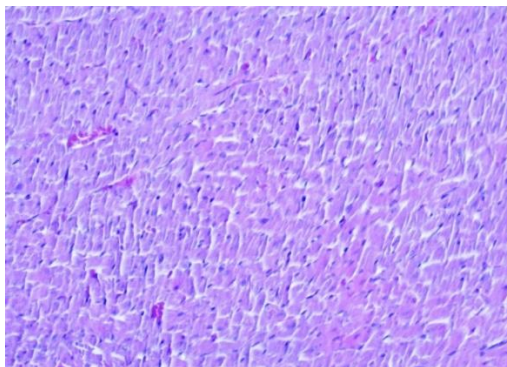
Picture 1 shows damaged myocardium after administration of a toxic dose of Verapamil to rats. Cardiomyocytes with loss of striation, nuclei with

karyorexis, erythrodiapedesis and karyopyknosis have been observed. Picture 2 shows the myocardium of rats treated with Verapamil overdose and treated with LE 10 ml/kg. Histological analysis showed

cardiomyocytes with centrally located nuclei, transverse striation, preserved histological structure, no evidence of necrosis, confirmed by normal values of cardiac enzymes after resuscitation with LE 10 ml/kg.



Picture 1 Damaged myocardium in acute intoxication with Verapamil in rats. Coloration with Hematoxylin and eosin (H&E) x20.

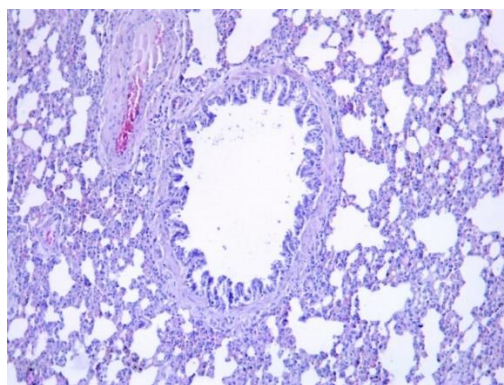


Picture 2 Normal myocardium after resuscitation with LE 10 ml/kg. Coloration with H&E x20.

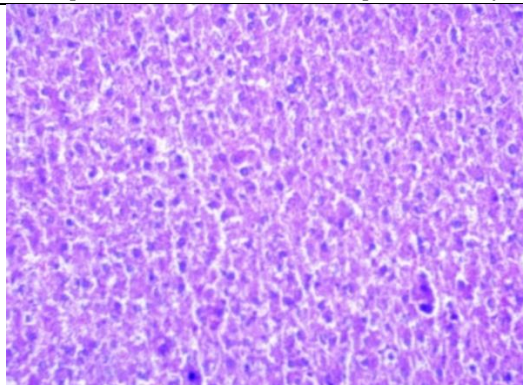
Pictures 3 and 4 show the lungs and liver of rats treated with Verapamil after administration of a high dose of LE 10 ml/kg. Liver analysis showed hepatocytes with preserved histological structure, no evidence of steatosis. The lung has a preserved histological structure, alveoli are seen, centrally located bronchioles, no evidence of acute respiratory distress

syndrome (ARDS) - no hyaline membranes are observed and no areas of atelectasis.

Both organs have preserved structure and no pathological changes in the tissues, which confirms the safety of LE even when administered in high doses of 10 ml / kg.



Picture 3 Lung with normal structure after administration of LE 10 ml/kg in rats. Coloration with H&E x20.



Picture 4 Liver with normal structure after administration of LE 10 ml/kg in rats. Coloration with H&E x20.

Results of the biochemical analysis. To assess the safety profile and clinical efficacy of LE, total bilirubin, total cholesterol, triglycerides, alkaline phosphatase, creatine phosphokinase (CPK), creatine phosphokinase MB-fraction (CPK-MB), urea, creatinine, gamma-glutamyl transferase, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT).

In rats poisoned with Verapamil, elevated values of early markers of myocardial damage CPK, CPK-MB were found compared to healthy controls, respectively 295.66 U/L and 118.80 U/L (see Table 1) (P <0.001).

Treatment with the recommended dose of LE 1.5 ml/kg showed a slight increase in CK-MB (20.85 U/l), while treatment with a very high dose of LE 10 ml/kg, CPK-MB showed normal values (19.65 U/l), compared with a human rate of 20 U/l. (No norm for rats).

Table 2 presents the laboratory parameters in all studied groups of animals. Triglycerides, total bilirubin, cholesterol, alkaline phosphatase, urea, creatinine, gamma-glutamyl transferase (GGT) AST and ALT in all groups remain normal. Normal values are observed even in the group treated with a high dose of Intralipid 20% 10 ml/kg.

Table 1

Laboratory parameters: results - rats

Laboratory indicators	Healthy	+Verapamil	Pretreated with LE 1.5 ml/kg	Verapamil + LE 1.5 ml/kg	Verapamil+ LE 10 ml/kg
Total bilirubin	2.09	0.52	3.53	4.88	2.40
Total cholesterol	1.72	1.57	2.13	1.64	1.72
Triglycerides	1.15	0.94	1.20	1.25	1.45
Alkaline phosphatase	108.79	125.75	123.87	121.53	118.32
CPK	157.79	295.66	192.43	189.76	179.49
CPK-MB	18.92	118.80	21.21	20.85	19.65
Urea	6.93	10.41	7.34	6.76	7.38
Creatinine	39.59	45.92	38.32	33.25	43.39
GGT	2.27	1.85	2.34	4.21	0.69
AST	78.45	80.82	78.23	79.98	76.04
ALT	66	62.50	79.82	75.35	81.99

Discussion of the results of the histological analysis. Histological analysis showed that LE protected both cardiomyocytes and liver and lung function and did not cause side effects. The myocardium of rats treated with Verapamil showed severe areas of necrosis, while in the group of rats treated with low and high doses of LE 10 ml/kg the myocardium had a preserved histological structure.

The experiment demonstrated that the treatment of rats with a high dose of LE 10 ml/kg did not have adverse effects on liver function. Hepatocytes with preserved histological structure without evidence of steatosis were observed microscopically. The highest dose of LE tested was 4 g/kg. Its effects have been studied on rabbits. Liver steatosis has been reported, but without biochemical signs of liver dysfunction [7].

The lack of toxicity of LE on the internal organs is confirmed by other authors. Hiller demonstrated that

high doses of LE 20, 40, 60 and 80 ml/kg did not cause pathological abnormalities in the normal histology of the myocardium, brain, pancreas and kidneys. Microscopic abnormalities in the lung and liver have only been observed at doses of 60 and 80 ml/kg, which are significantly higher than those in humans and support the safety of LE [8].

Administration of LE in high doses may induce dose-dependent pulmonary fat embolism and ARDS. The reason is that the high dose and rapid administration of LE lead to an increase in the concentration of free fatty acids due to the activation of lipoprotein lipase. The high concentration of free fatty acids causes vasoconstriction due to impaired endothelium-dependent vasorelaxation. Fatty acid infusion stimulates an increase in prostaglandin concentration and endothelial dysfunction [9].

In our study, we found no lung damage at either low or high dose LE. LE in doses of 1.5 ml/kg and 10 ml/kg are safe. In support of the safety of LE, Levine [10] hypothesized that pulmonary complications were much more likely to be due to the disease itself than to the administration of LE.

Based on our results, the best and at the same time safe dose of LE as an antidote in an animal model of Verapamil cardiotoxicity is 10 ml/kg. These findings coincide with other leading researchers that high doses of LE are more effective as an antidote. According to Moshiri [9], in a Haloperidol neurotoxicity model in rabbits, the best results were obtained at a dose of 12 ml/kg, while Harvey and Cave recommended 6 ml/kg LE as an antidote to local anesthetic toxicity in rabbits [11]. Perez reported that 18.6 ml/kg LE was the optimal dose as an antidote to Verapamil toxicity in rats [12].

Discussion of the changes in laboratory parameters. The present experiment showed that both low and high doses of LE had a cardioprotective effect in rats, as evidenced by the normalization of elevated cardiac enzymes. CPK-MB is slightly elevated at a low dose of LE 1.5 ml/kg (recommended by ASRA), but is normal at a high dose of LE 10 ml/kg.

The lipid profile, liver and kidney parameters in all groups remain normal. Normal values were observed in the group of animals treated with a high dose of Intralipid 20% 10 ml/kg, which confirms its safety because there are no data on suspected liver, lung and renal toxicity.

The safe profile of LE was demonstrated on 20 sedated rabbits in a Clomipramine toxicity model treated with a dose very close to ours, namely LE 12 ml/kg. This is a dose that is much higher than the dose of LE recommended by ASRA [13].

LD50 of 20% LE studied in an experiment with rodents and mammals. It was found to be 67.72 ml/kg in rats and 135 ml/kg in dogs. Such a dose is significantly higher than the doses used for resuscitation of patients, which supports the safety of LE in therapeutic doses [8].

Conclusion. The present analysis showed that both pretreatment and resuscitation with low or high dose LE could reduce toxicity and prevent dose-dependent asystole induced by Verapamil. Laboratory parameters and histology of internal organs remain normal, even at a high dose of LE 10 ml/kg which proves its safety with short-term use as an antidote. LE in doses of 1.5 ml/kg and 10 ml / kg are safe. These results suggest that lipid emulsions can be used as an innovative method for the treatment of acute exogenous intoxications in humans, especially with hemodynamic instability, when standard resuscitation protocols prove ineffective.

Acknowledgments. I am grateful to my supervisor Professor Snezha Zlateva for the support. Thanks to the clinical pathologist Dr. Zgurova for the performed histological analysis.

References:

- Weinberg G.L. Treatment of local anesthetic systemic toxicity (LAST). *Reg Anesth Pain Med.* 2010;35:188–193. Doi: 10.1097/AAP.0b013e3181d246c3.
- Gul F, Duman N.C, Arslantas M.K, et al. The Effect of Low Dose Sildenafil On Verapamil - Induced Cardiovascular Toxicity in Rats. *Intensive Care Med Exp.* 2015; 3 (1): A500. Doi:10.1186/2197-425X-3-S1-A500
- Seyffart G. *Poison index. The Treatment of Acute Intoxication.* 4 Edition, 1997;166.
- Vuković-Ercegović G, Perković-Vukčević N, Đorđević Sn, et al. Successful usage of intravenous lipid emulsion in treatment of acute verapamil poisoning: A case report. *Vojnosanitetski Pregled*, Volume 74, Number 3, 2017, pp. 278-281(4). Directory of Open Access Journals. <https://doi.org/10.2298/VSP150901010V>
- St-Onge M, Anseeuw K, Cantrell F.L., et. al. Experts Consensus Recommendations for the Management of Calcium Channel Blocker Poisoning in Adults. *Crit Care Med.* 2017 Mar;45(3):e306-e315. doi: 10.1097/CCM.0000000000002087.
- Neal J.M., Mulroy M.F., Weinberg G.L. American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine. American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine checklist for managing local anesthetic systemic toxicity: 2012 version. *Reg Anesth Pain Med* 2012;37:16–18.
- Morán Penco J.M., Maciá Botejara E, Salas Martínez J, et al. Liver lipid composition and intravenous, intraperitoneal, and enteral administration of intralipid. *Nutrition.* 1994 Jan-Feb; 10 (1): 26-31.
- Hiller D.B., Di Gregorio G, Kelly K, et al. Safety of high volume lipid emulsion infusion: a first approximation of LD50 in rats. *Reg Anesth Pain Med.* 2010;35(2):140-144. Doi:10.1097/aap.0b013e3181c6f5aa
- Moshiri M, Mohammadpour A.H., Vahabzadeh M, et al. Evaluating the Effects and Safety of Intravenous Lipid Emulsion on Haloperidol-Induced Neurotoxicity in Rabbit. *BioMed Research International*, 2014 (2014): 9; Article ID 949262, <https://doi.org/10.1155/2014/949262>.
- Levine M, Skolnik A.B., Ruha A.M., et al. Complications following antidotal use of intravenous lipid emulsion therapy. *J Med Toxicol.* 2014 Mar; 10(1):10-4.
- Harvey M, Cave G. Intralipid infusion ameliorates propranolol- induced hypotension in rabbits. *J Med Toxicol.* 2008; 4: 71–76. Doi: 10.1007/BF03160958
- Perez E, Bania T.C., Medlej K, et al. Determining the optimal dose of intravenous fat emulsion for the treatment of severe verapamil toxicity in a rodent model. *Academic Emergency Medicine.* 2008; (15) 12: 1284–1289, 2008.
- Harvey M, Cave G, Hoggett K. Correlation of plasma and peritoneal diastylate clomipramine concentration with hemodynamic recovery after intralipid infusion in rabbits. *Acad Emerg Med.* 2009 Feb; 16 (2): 151-6.

Kazlouski I.S.*Master of Biol. Sci., researcher,
Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences***Solovjeva A.V.***Master of Biol. Sci., junior researcher,
Institute of Experimental Veterinary, Minsk, Republic of Belarus***Zinchenko A.I.***D. Sc. (Biology), head of laboratory,
Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences***Novikova O.N.***Ph.D. in veterinary, leading researcher,
Institute of Experimental Veterinary, Minsk, Republic of Belarus***Lomako Y.V.***Ph.D. in veterinary, director of institute,
Institute of Experimental Veterinary, Minsk, Republic of Belarus*

CONSTRUCTION OF STRAIN PRODUCING A SUBUNIT OF ESCHERICHIA COLI THERMOLABILE TOXIN

Казловский И.С.*магистр биологических наук, научный сотрудник,
Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси***Соловьева А.В.***магистр биологических наук, младший научный сотрудник,
Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского,
г. Минск, Республика Беларусь***Зинченко А.И.***доктор биологических наук, заведующий лабораторией,
Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси***Новикова О.Н.***кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник,
Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского,
г. Минск, Республика Беларусь***Ломако Ю.В.***кандидат ветеринарных наук, директор института,
Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского,
г. Минск, Республика Беларусь*

СОЗДАНИЕ ШТАММА, ПРОДУЦИРУЮЩЕГО СУБЪЕДИНИЦУ ТЕРМОЛАБИЛЬНОГО ТОКСИНА ESCHERICHIA COLI

Summary. Colibacteriosis is an acute zoonotic disease manifested by septicaemia, toxemia, enteritis, dehydration of the body and damage of the central nervous system. Enterotoxigenic strains of *E. coli* occupy one of the leading places in the etiological structure of calf colibacteriosis in many livestock farms of the Republic of Belarus. As a result of the work, we have created a new strain of *E. coli* 42eLTB - the producer of the recombinant subunit B of the thermolabile toxin of the enterotoxigenic strain *E. coli*. The producing capacity of the obtained strain is 480 mg with 1 L of culture liquid, which exceeds already known strains by 1.37 times.

Аннотация. Колибактериоз – это остро протекающая зоонозная болезнь, проявляющаяся септицемией, токсемией, энтеритом, обезвоживанием организма и поражением центральной нервной системы. Энтеротоксигенные штаммы *E. coli* занимают одно из ведущих мест в этиологической структуре колибактериоза телят во многих животноводческих хозяйствах Республики Беларусь. В результате выполнения работы нами создан новый штамм *E. coli* 42eLTB – продуцент рекомбинантной субъединицы В термолabile токсина энтеротоксигенного штамма *E. coli*. При этом продуцирующая способность полученного штамма составляет 480 мг с 1 л культуральной жидкости, что превышает уже известные штаммы в 1.37 раз.

Key words: *Escherichia coli*, thermolabile toxin, colibacteriosis, genetic engineering

Ключевые слова: *Escherichia coli*, термолabile токсин, колибактериоз, генная инженерия

Введение. Основными факторами отделе кишечника, а также способность к вирулентности энтеропатогенных штаммов *E. coli* продукции термолabile [1, 2] и являются факторы адгезии, способствующие термостабильного энтеротоксинов. колонизации бактериями энтероцитов тонкого Термолabile (LT) и/или термостабильные

энтеротоксины вызывают секрецию энтероцитами жидкости и электролитов, что сопровождается водянистой диареей, истощением и гибелью человека или животного.

Термолабильный токсин *E. coli* функционально аналогичен холерному токсину и состоит из пяти В-субъединиц и одной активной субъединицы А. Субъединица В энтеротоксина *E. coli* (далее субъединица В) облегчает проникновение в клетку субъединицы А, которая активирует аденилатциклазу. Затем происходит увеличение концентрации цАМФ, что приводит к повышению секреции хлоридов и воды и уменьшению реабсорбции внутрь клетки ионов натрия. В просвете кишечника скапливается жидкость и развивается диарейный синдром.

Из анализа литературных данных последних лет [3] следует вывод о том, что перспективным направлением инноваций в разработке вакцин для профилактики болезней, вызванными энтеропатогенными и энтеротоксигенными штаммами *E. coli* является включение в их состав факторов вирулентности и, в первую очередь, токсидов термолабильного токсина.

Таким образом, включение в состав поливалентных вакцин для профилактики желудочно-кишечных заболеваний телят термолабильного анатоксина *E. coli* может существенно повысить профилактический эффект вакцинации и экономический эффект от их применения.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы служило создание штамма-продуцента рекомбинантной субъединицы В термолабильного токсина *E. coli* для последующего использования в специфической профилактике желудочно-кишечных бактериальных инфекций крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследования.

Источником гена субъединицы В (*eLTB*) служила ДНК бактерий *E. coli* O157:H7, выделенная из бактериальной биомассы с помощью коммерческого набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, США). Целевой фрагмент ДНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием в качестве матрицы геномной ДНК и синтетических праймеров. Подбор олигонуклеотидов проводили с использованием программного обеспечения UGENE 1.22 (UniPro, Россия) на основе последовательностей гена субъединицы В. На 5'-окончания праймеров были добавлены последовательности, комплементарные плазмиде pET42a+ (Novagen, США). На втором этапе линеаризовали плазмиду pET42a+ методом ПЦР с использованием Diamant-ДНК-полимеразы (Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь). На третьем этапе собирали линеаризованный вектор и целевые гены методом продолжительной перекрывающейся ПЦР (ПП-

ПЦР) [4]. На этом этапе в качестве матрицы и затравки были использованы фрагменты, полученные на первых двух этапах, в эквимольных количествах.

Синтезированным в ходе ПП-ПЦР продуктом трансформировали компетентные клетки *E. coli* XL1Blue (Novagen) с последующим высевом на плотную селективную питательную среду LB с добавлением канамицина (100 мкг/мл).

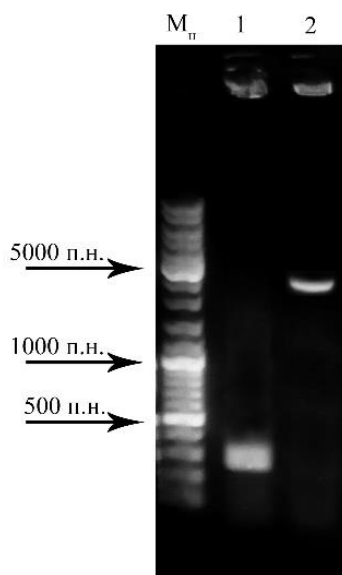
Рестрикционный и ПЦР-анализ полученных клонов осуществляли по стандартным методикам. Результаты визуализировали с помощью электрофореза и обрабатывали с использованием системы гель-документирования и программного обеспечения BioRad. Секвенирование клонов проводили при помощи автоматизированной системы генетического анализа Beckman Coulter GenomeLab GeXP™ (BeckmanCoulter, США).

Из полученных трансформантов при помощи щелочного лизиса выделяли плазмиды, которые в дальнейшем использовали для трансформации электрокомпетентных клеток *E. coli* BL21 (DE3). Клетки-трансформанты выращивали в среде LB с канамицином (80 мкг/мл) до оптической плотности КЖ 0.6 ($\lambda = 600$ нм), затем индуцировали синтез белка 0.5 мМ изопропил- β -тиогалактопиранозидом (ИПТГ). Анализ процентного содержания целевого белка осуществляли, используя программу ImageLab (BioRad, США).

По окончании культивирования клетки осаждали центрифугированием, ресуспендировали в 50 мМ Na-фосфатном буфере (pH 8.0), содержащем 300 мМ NaCl и 20 мМ имидазол. Ультразвуковую дезинтеграцию клеток проводили в приборе Sonifier-450 (Branson, США) при следующих режимах: мощность – 0.05 кВт; температура – 4°C; продолжительность – 600 импульсов по 0.5 с. Клеточный лизат осветляли центрифугированием при 60 000 g в течение 30 мин. Осадок, содержащий «тела включения», отмывали 8 М раствором мочевины в течение 2 ч и подвергали центрифугированию. Супернатант наносили на хроматографическую колонку со смолой Ni-NTA (Qiagen, США). Белок элюировали 50 мМ Na-фосфатным буфером (pH 8.0), содержащим 300 мМ NaCl и 500 мМ имидазол. Полученные в результате аффинной хроматографии образцы анализировали с помощью ДСН-полиакриламидного гель-электрофореза. Фракции, содержащие целевой белок, объединяли и диализовали против против 100-кратного объема 50 мМ Трис-НСl-буфера (pH 8.0), содержащего 100 мМ NaCl.

Результаты и обсуждение.

Последовательность гена *eLTb* длиной 372 п.о. выделили из геномной ДНК *E. coli* O157:H7 при помощи ПЦР. Затем проводили линеаризацию вектора pET-42a(+) длиной 4976 п.о. Полученные амплификаты анализировали при помощи 1.5% агарозного гель-электрофореза (рис. 1).



M_n (здесь и далее) – маркер молекулярных масс фрагментов ДНК.

Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР-амплификации гена *eLTB* (1) и вектора *pET42a(+)* (2)

При постановке ПП-ПЦР в реакционную смесь вносили эквимольное количество линейризованного вектора *pET42a* и очищенного гена *eLTB*. Полученной ПЦР смесью трансформировали компетентные клетки *E. coli* XL1Blue (ThermoFisher, США).

ДНК, полученная из колоний бактериальных клеток, в дальнейшем подвергли ПЦР-анализу для

подтверждения наличия целевого гена в правильной ориентации. Для этого использовали праймеры к последовательности T7-терминатора и к последовательности, кодирующей целевой белок. Полученные результаты ПЦР-анализа представлены на рис. 2.

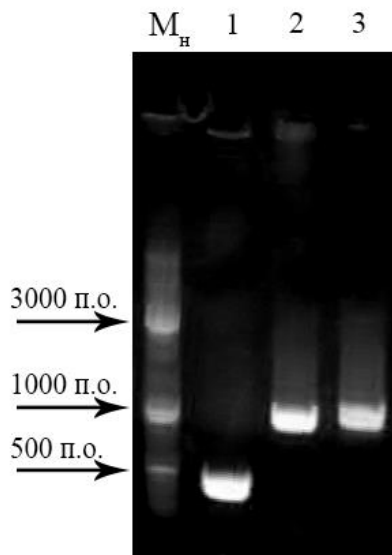


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов ПЦР-анализа ДНК, изолированной из трех колоний, образованных клетками-трансформантами

Из данной электрофореграммы следует, что только в одной из трех колоний присутствует ген *eLTb* в правильной ориентации. Такая колония была выбрана для дальнейшей работы.

Из выбранного штамма-трансформанта выделили плазмиду при помощи щелочного лизиса. Выделенную кольцевую молекулу проверили рестрикционному анализу по сайту узнавания рестриктазы *HindIII* и секвенированием, для подтверждения факта отсутствия нежелательных

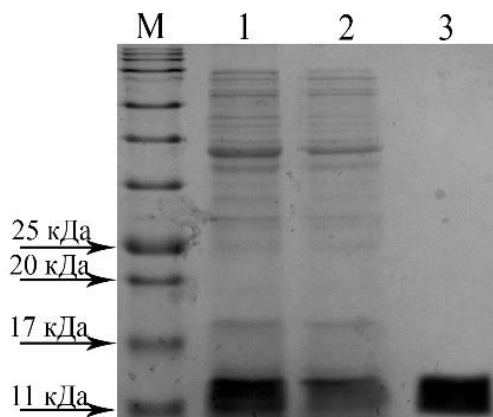
спонтанных мутаций, появившихся в гене субъединицы В. По результатам этих анализов был сделан вывод о том, что полученная линейная молекула ДНК соответствует теоретически рассчитанной массе – 5386 п.о. и полинуклеотидная последовательность, кодирующая субъединицу В, совпадает с первоначальной последовательностью гена *eLTb*.

Полученной ранее плазмидой трансформировали компетентные клетки *E. coli*

BL21 (DE3). В результате был создан штамм *E. coli* 42eLTV – продуцент рекомбинантной термолабильной субъединицы В токсина *E. coli*, молекула которого содержит дополнительный октагистидиновый олигопептид на С-конце.

При экспрессии белка в полученном штамме с применением 0.5 мМ ИПТГ доля целевого белка с

молекулярной массой около 15 кДа (что соответствует теоретически рассчитанной молекулярной массе субъединицы В токсина) составляет 81.2 % от общего клеточного белка (рис. 3).



M – положение и молекулярные массы (кДа) стандартных белков.

Рис. 3 – Электрофоретический анализ белкового состава клеток *E. coli* 42eLTV: общий клеточный белок (1), нерастворимая фракция (2) и очищенный белковый препарат термолабильной субъединицы В токсина *E. coli* (3)

Продуцирующая способность штамма *E. coli* 42eLTV составила 480 мг белка с 1 л КЖ. По сравнению с максимальной продуцирующей способностью штамма *Bacillus brevis* HPD31 pNU212-LTV известным из литературных источников [5], продуцирующая способность штамма превышает над известным в 1.37 раз.

Следует подчеркнуть, что введение в рамку считывания гена дополнительного олигонуклеотида, кодирующего октагистидиновый олигопептид на С-конце, позволило в одну стадию получить препарат белка, чистота которого составила более 97 %. В результате, после очистки с помощью хроматографии и последующего концентрирования белка путем постановки диализа из 200 мл КЖ было получено 25 мг белка с выходом 26 %.

Заключение. Впервые сконструирована генетическая конструкция, включающая в себя ген субъединицы В термолабильного токсина *E. coli*, выделенный методом ПЦР и встроенный в вектор pET42a(+). Созданной конструкцией были трансформированы клетки *E. coli* BL21 (DE3), что привело к созданию нового рекомбинантного штамма *E. coli* 42eLTV – продуцента рекомбинантной субъединицы В термолабильного токсина *E. coli*, содержащая октагистидиновый олигопептид на С-конце молекулы. Такая первичная структура антигена позволяет выделять его из клеточного лизата в одну стадию с использованием металлоаффинной хроматографии

на смоле Ni-NTA. Продуцирующая способность полученного нового штамма *E. coli* 42eLTV составила 480 мг белка с 1 л КЖ, что превышает известный штамм-продуцент в 1.37 раз.

Литература:

1. Sospedra I., Simone C., Soriano J.M. et al. Characterization of heat-labile toxin-subunit B from *Escherichia coli* by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Food Chem. Toxicol.* 2012. Vol. 50. P. 3886–3891.
2. Loc N.H., Tung N.V., Kim P.T., Yang M.S. Expression of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin b subunit in *Centella (Centella Asiatica) Urban* via biolistic transformation. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2020. Vol. 21, № 10. P. 973–979.
3. Hur J., Tao C., He Y. A 2018 workshop: vaccine and drug ontology studies (VDOS 2018). *BMC Bioinformatics.* 2019. Vol. 20, Suppl. 21. Art. 705.
4. Quan J., Tian J. Circular polymerase extension cloning of complex gene libraries and pathways. *PLoS ONE.* 2009. Vol. 4, № 7. Art. e6441.
5. Kozuka S., Yasuda Y., Isaka M. Efficient extracellular production of recombinant *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin B subunit by using the expression/secretion system of *Bacillus brevis* and its mucosal immunoadjuvanticity. *Vaccine.* 2000. Vol. 18, № 17. P. 1730–1737.

Bulatowski A.B.*Master of biology, junior researcher,
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus***Zinchenko A.I.***Dr. Sci, Professor, head of laboratory,
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus*

PRODUCTION OF HUMAN ANNEXIN A5 FUSED WITH BACTERIAL ADENOSINE CATABOLIC ENZYMES

Булатовский А.Б.,*магистр биологических наук, младший научный сотрудник,
Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси***Зинченко А.И.,***доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией,
Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси*

ПОЛУЧЕНИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО АННЕКСИНА А5, СЛИТОГО С ФЕРМЕНТАМИ КАТАБОЛИЗМА АДЕНОЗИНА

Summary. Submerged culture of recombinant *Escherichia coli* strains produced chimeric proteins «Annexin-ADase» and «Annexin-PNPase» composed of human annexin A5, fused with homologous adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase of *E. coli*, respectively. Affinity chromatographic isolation of these proteins from ultrasonic cell lysates on Ni²⁺-NTA-agarose yielded preparations of 95% purity grade (according to the results of polyacrylamide gel electrophoresis). The chimeric proteins «Annexin-ADase» and «Annexin-PNPase» have been shown to transform adenosine into adenine and inosine, respectively. Such properties of the target proteins, judging by literature data, allow to consider them as promising agents for use in cancer biotherapy.

Keywords: fusion protein, human annexin A5, adenosine deaminase, purine nucleoside phosphorylase, *Escherichia coli*.

Introduction. Cancer is one of the major lethal pathologies around the world. It accounts for heavier human mortality rate than overall death toll of malaria, TB and AIDS [1–3]. Solid tumors affecting lungs, mammary gland, rectum, prostate are referred to four most frequently diagnosed varieties of malignant diseases. Lung cancer takes the irrefutable lead both in incidence and fatality in the morbid tetrad. Global neoplastic advance is rapidly progressing. By 2030 new cancer cases are expected to exceed 21.7 million figure and 13 million deaths will be provoked by ageing and demographic boom [4, 5].

In Belarus, similar to other European countries, malignant tumors are the second worst plague of local population, leaving the notorious championship only to cardiovascular diseases [6]. Unfortunately, conventional oncotherapy methods, like surgery, irradiation, chemical treatment have failed so far to cope with cancer challenge [7, 8]. At the same time rare events of spontaneous tumor regression and remarkable achievements of medical enthusiasts (dated back to the past century) who succeeded to cure some types of cancer with bacterial lysates [9–11], provide evidence that human immune system is capable to eliminate both the recurrent singular aberrant cells and massive tumors at the late stages of oncogenesis. As a rule, it does not happen in everyday practice due to the fact that each solid tumor is surrounded by special microenvironment inactivating anticancer immune cells [12, 13].

Ribonucleoside adenosine distinguished by 1000-fold elevated extracellular concentration in tumor

microenvironment is known to act as one of key inhibitors of cancerostatic immune activity [14].

In the previous study [15] we proposed the idea to eliminate inhibitory effect of adenosine on antitumor immune response of oncopatients using adenosine-degrading enzymes, like adenosine deaminase (ADase) or purine nucleoside phosphorylase (PNPase). It was suggested to deliver the above-mentioned enzymes precisely into the tumor with the aid of proteins recognizing the target cancer cells. The role of such protein, for instance, may be played by annexin A5 expressed in human placenta. It is selectively linked with phosphatidyl serine – lipid compound arising in huge amounts on the surface of most cells subjected to neoplastic degeneration [16, 17]. Noteworthy, that the latest reports have indicated the inherent antitumor potential of annexin A5 [18].

Getting down to the experimental testing of the afore-postulated assumption, we were guided by the approach described by J. Kraiss et al. [19] who engineered the recombinant strain of *E. coli* capable to produce annexin A5 fused with homologous PNPase for further use of this chimeric protein as the element of the so-called suicidal gene therapy of cancer envisaging specific binding with tumor cells.

Our previous research efforts resulted in *E. coli* strains producing annexin A5 fused with homologous ADase [20] and PNPase [21], designated as «Annexin-ADase» and «Annexin-PNPase», respectively.

The present investigation is aimed at synthesis and characterization of recombinant chimeric proteins «Annexin-ADase» and «Annexin-PNPase».

Materials and methods. Strain *E. coli* BIM B-1223G – a source of protein «Annexin-ADase» and strain *E. coli* BIM B-1411D – a source of protein «Annexin-PNPase» deposited at Belarussian collection of non-pathogenic microorganisms served as objects of study.

Bacterial strains were cultured in Luria-Bertany liquid nutrient medium [22] at 37°C to reach OD value 0.6 ($\lambda=600$ nm), then enzyme synthesis was induced by adding isopropyl β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) (0.2 mM) into the medium, and the cultivation continued for 4 h. Upon sedimentation of bacterial cells by centrifugation the pellet was treated to recover chimeric proteins. Cell biomass was resuspended in buffer containing 300 mM NaCl, 10 mM imidazole, 50 mM NaH₂PO₄ (pH 8.0). Ultrasonic cell disintegration was conducted at Sonifier-450 unit (Branson, USA). Cell lysate was clarified by centrifuging and supernatant was applied on chromatographic column with Ni²⁺-NTA-agarose (Qiagen, USA).

Chimeric proteins were eluted with the buffer comprising 300 mM NaCl, 50 mM NaH₂PO₄ and 500 mM imidazole (pH 8.0). Fractions containing the target chimeric proteins were pooled, dialyzed against 400-fold volume of 50 mM Tris-HCl-buffer (pH 8.0), and their enzymatic activities were assayed.

ADase and PNPase activities of chimeric proteins were determined via the rate of adenosine transformation into inosine and adenine, respectively. Reaction mixture containing 40 mM adenosine, 50 mM Tris-HCl-buffer (pH 8.0) and 0.005% enzyme was incubated at 37 °C. The process was controlled using thin-layer chromatography (TLC) on Silica gel 60 F₂₅₄ plates (Merck, Germany) in the solvent system: isopropanol-chloroform-25 % aqueous ammonia (10:10:1 volume ratio). The substances were detected

on the plates in UV-light. They were eluted from the plates with 5 ml aliquots of 10 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0). Concentrations of eluted substances were measured spectrophotometrically employing the known coefficient of molar extinction. The absorbance spectra of eluates were recorded at spectrophotometer PB2201A (Solare, Belarus). The amount of enzyme sufficient to convert adenosine into inosine or adenine at the rate 1 μ mol/min was assumed as one unit of ADase and PNPase activity.

Electrophoretic analysis of proteins was performed by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis [23].

Results and discussion. The applied flow sheet of producing chimeric proteins (fig. 1) embraced such principal stages as engineering of strains-producers of target proteins, microbial culture and accumulation of biomass, ultrasonic cell disintegration and finally recovery of end products from cell lysate and subsequent purification.

Since the engaged *E. coli* strains produce chimeric proteins carrying at C-terminus the additional Ni-affine octahistidine oligopeptide, such proteins may be recovered from the solution using metal affinity chromatography. That is why the clarified cell lysates were applied on the column with Ni²⁺-NTA resin. Highly purified proteins were derived by multiple washing of the column with lysis buffer and the buffer fortified with Triton X-100 to promote removal of non-specifically bound by-proteins.

The presence of octahistidine oligopeptide at C-end of chimeric protein molecule coupled to repeated column treatment with buffer solutions enabled to yield biopreparations «Annexin-ADase» and «Annexin-PNPase» with purity grade over 95% (fig. 2).

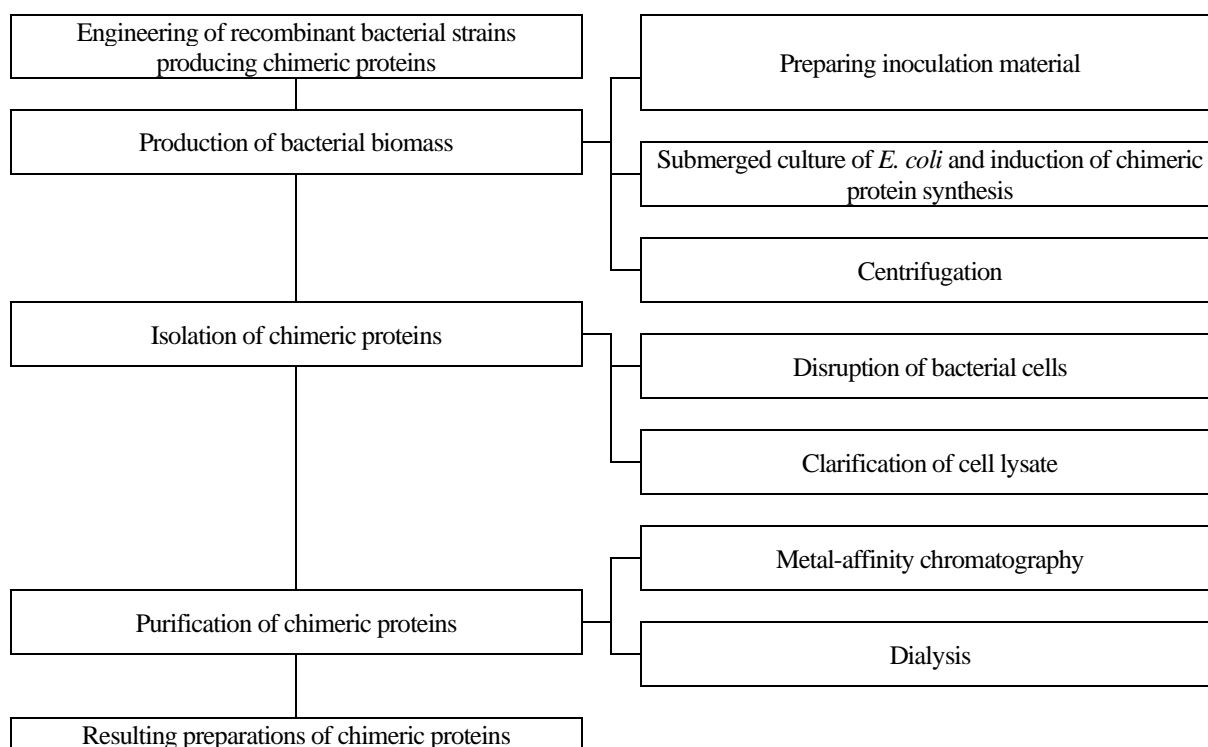


Fig. 1. Flow chart of chimeric protein production

It can be seen from the electrophoregram that isolated and purified chimeric proteins possess molecular weights about 64 kDa («Annexin-PNPase») and 74 kDa («Annexin-ADase»), corresponding to the theoretically calculated values.

In accordance with the end product synthesis and purification procedure, 54 mg and 36 mg of

chromatographically pure chimeric proteins «Annexin-ADase» and «Annexin-PNPase», respectively, were recovered from 1 liter of cultural liquid.

At the final stage of research we tested the ability of chimeric proteins to express the required enzymatic activity, i.e. to carry out processes illustrated by fig. 3.

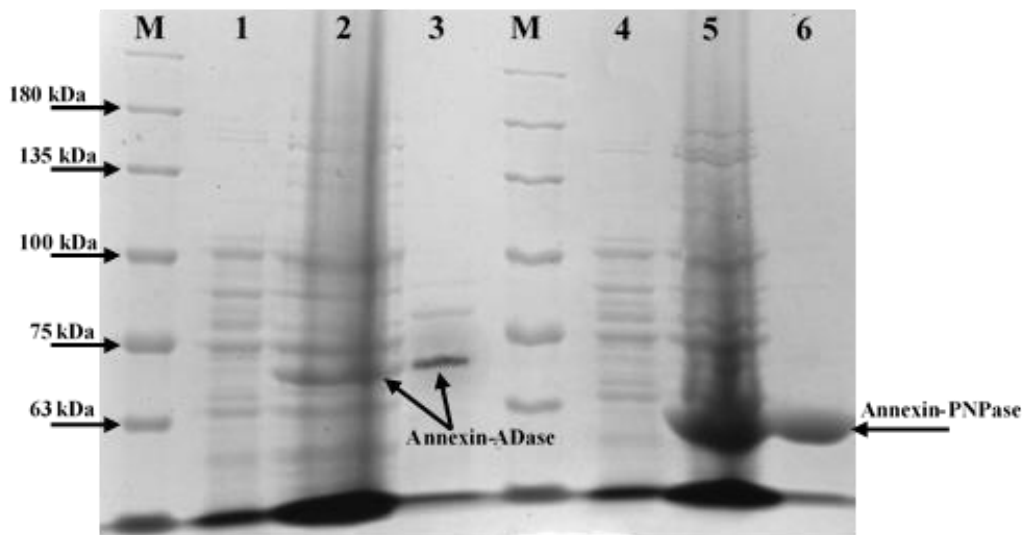


Fig. 2. SDS-PAGE image of chimeric proteins «Annexin-PNPase» and «Annexin-ADase»; M – protein molecular weight markers; 1 and 4 – cell lysates before protein synthesis induction; 2 and 5 – cell lysates after protein synthesis induction; 3 and 6 – purified chimeric proteins

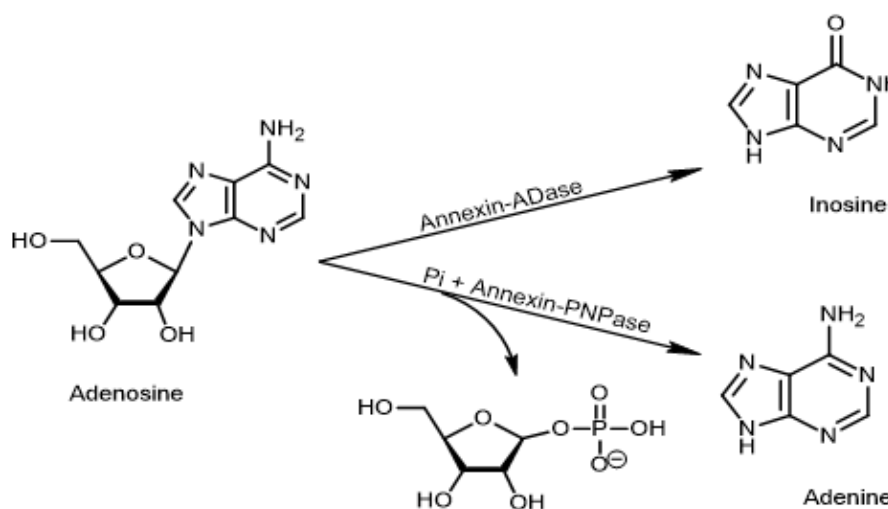


Fig. 3. Reactions catalyzed by chimeric proteins Annexin-ADase (upper) and Annexin-PNPase (lower)

Enzymatic transformation of adenosine by the chimeric proteins was controlled by thin-layer chromatography. It is evident from fig. 4 data that both

reactions are accompanied by generation of adenosine dissimilation products – adenine and inosine.

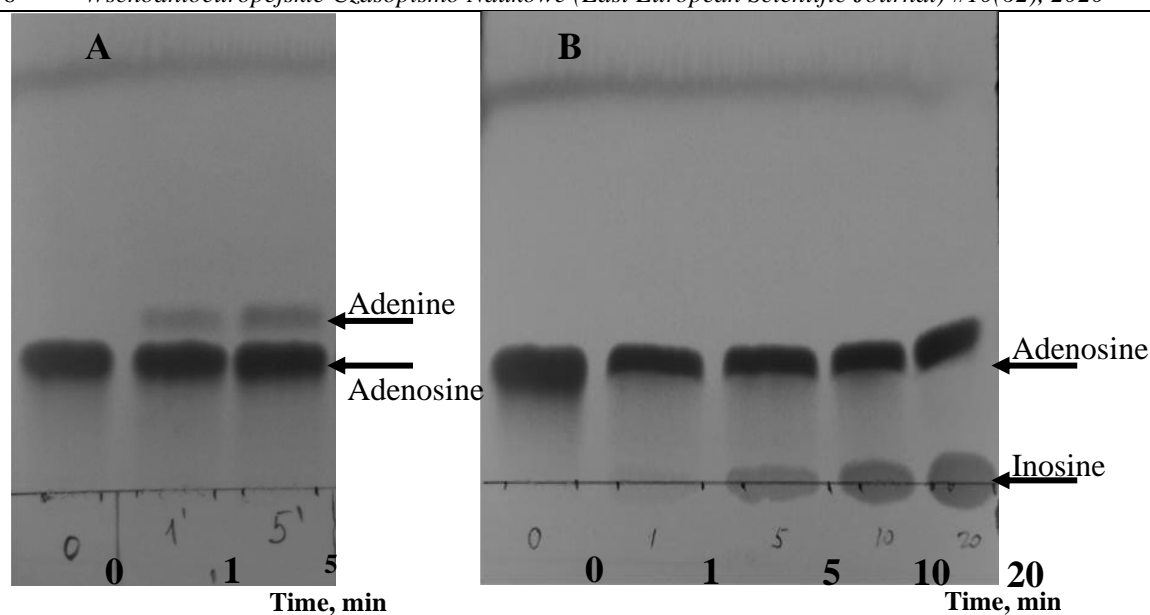


Fig. 4. Chromatogram of adenosine decomposition products released in the course of the reactions catalyzed by chimeric proteins

Taking into account literature reports reviewed in the section Introduction and our research data, it may be deduced that such chimeric proteins are attractive agents for further use in immunotherapy of cancer.

Conclusion. Summing up, submerged fermentation of recombinant *E. coli* strains resulted in 2 chimeric proteins composed of phosphatidylserine-binding human annexin A5 conjugated with homologous ADase or PNPase. The ability of these proteins to convert adenosine into inosine or adenine, respectively, was demonstrated. Sufficient grounds are available to regard such proteins as potential anticancer agents.

References:

- Zugazagoitia J., Guedes C., Ponce S., et al. Current challenges in cancer treatment // *Clinical Therapeutics*. 2016. Vol. 38, N 7. P. 1551–1566. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.03.026>
- Ventola C.L. Cancer Immunotherapy, Part 1: Current Strategies and Agents // *PT*. 2017. Vol. 42, N 6. P. 375–383.
- Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2020 // *CA Cancer J. Clin.* 2020. Vol. 70. P. 7–30.
- American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2020 [Electronic resource]. Mode of access: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2020/cancer-facts-and-figures-2020.pdf>
- Pan C., Liu H., Robins E., et al. Next-generation immuno-oncology agents: current momentum shifts in cancer immunotherapy // *Journal of Hematology & Oncology*. 2020. Vol. 13, N 1.:29. DOI: 10.1186/s13045-020-00862-w
- Cancer – the second most frequent cause of death of Belarusians [Electronic resource]; 2016. Mode

of access: <https://news.tut.by/society/483467.html>. Date of access: 30.07.2020.

- Kushlinskii N.E., Nemtsova M.V. Molecular biological characteristics of cancer // *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2014. N 1–2. P. 5–15. <https://doi.org/10.15690/vramn.v69.i1-2.934>
- Sverdlov E.D. Multidimensional complexity of cancer. Simple solutions are needed // *Biochemistry (Mosc)*. 2016. Vol. 81, N 7. P. 731–738. DOI: 10.1134/s0006297916070099
- Coley W.B. The treatment of inoperable sarcoma by bacterial toxins (the mixed toxins of the *Streptococcus erysipelas* and the *Bacillus prodigiosus*) // *Proc. R. Soc. Med.* 1910. Vol. 3(Surg Sect). P. 1–48.
- Nauts H.C., Fowler G.A., Bogatko F.H. A review of the influence of bacterial infection and of bacterial products (Coley's toxins) on malignant tumors in man // *Acta Medica Scandinavica. Supplementum*. 1953. Vol. 276. P. 1–103.
- Hoption Cann S.A., van Netten J.P., van Netten C. Dr William Coley and tumour regression: a place in history or in the future // *Postgrad. Med. J.* 2003. Vol. 79, N 938. P. 672–680.
- Giraldo N.A., Sanchez-Salas R., Peske J.D., et al. The clinical role of the TME in solid cancer // *Brit. J. Cancer*. 2019. Vol. 120, N 1. P. 45–53. DOI: 10.1038/s41416-018-0327-z
- Joshi S. Targeting the tumor microenvironment in neuroblastoma: Recent advances and future directions // *Cancers*. 2020. Vol. 12, N 8. Art. 2057. DOI: 10.3390/cancers12082057
- Vaupel P., Mayer A. Hypoxia-driven adenosine accumulation: A crucial microenvironmental factor promoting tumor progression // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016. Vol. 876. P. 177–183. DOI: 10.1007/978-1-4939-3023-4_22

15. Zinchenko A.I. Adenosine as a potential target for cancer biotherapy // Proc. Nat. Acad. Sci. Belarus: Biol. Ser. 2016. N 4. P. 118–128 (in Russian).
16. Wang J., Liu J., Cao Y., Hu M., Hua Z. Domain IV of Annexin A5 is critical for binding calcium and guarantees its maximum binding to the phosphatidylserine membrane // *Molecules*. 2017. Vol. 22, N 12. Art. 2256. DOI: 10.3390/molecules22122256
17. Sharma B., Kanwar S.S. Phosphatidylserine: A cancer cell targeting biomarker // *Semin. Cancer Biol.* 2018. Vol. 52, Pt 1. P. 17–25. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.08.012
18. Kang T.H., Park J.H., Yang A., et al. Annexin A5 as an immune checkpoint inhibitor and tumor-homing molecule for cancer treatment // *Nat. Commun.* 2020. Vol. 11, N 1. Art. 1137. DOI: 10.1038/s41467-020-14821-z
19. Kraus J.J., De Crescenzo O., Harrison R.G. Purine nucleoside phosphorylase targeted by Annexin V to breast cancer vasculature for enzyme prodrug therapy // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, N 10. Art. e76403. DOI: 10.1371/journal.pone.0076403
20. Zinchenko A.I., Kvach S.V., Eroshevskaya L.A., Bulatovski A.B. Engineering of bacterial strain-producer of chimeric protein containing human annexin A5 and *Escherichia coli* adenosine deaminase // *East. Eur. Sci. J.* 2017. N 4. P. 5–11.
21. Bulatovski A.B., Zinchenko A.I. Creation of strain-producer of bacterial purine nucleoside phosphorylase fused with human annexin A5 // *Proc. Nat. Acad. Sci. Belarus: Biol. Ser.* 2020. Vol. 65, N 2. P. 239–244 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-2-239-244>
22. Bertani G. Lysogeny at mid-twentieth century: P1, P2, and other experimental systems // *J. Bacteriol.* 2004. Vol. 186, N 3. P. 595–600. DOI: 10.1128/JB.186.3.595-600.2004
23. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. 1970. Vol. 227, N 5259. P. 680–685.

УДК 631.811:634.7:635.925

¹*Podhaietskyi Anatolii Adamovich.*

Doctor of Agricultural Science

²*Matskevych Vyacheslav Viktorovich,*

Candidate of Agricultural Science

²*Filipova Larisa Mykolayivna,*

Candidate of Agricultural Science

³*Skripchenko Nadiya Vasilivna*

Candidate of Biological Science

¹*Kravchenko Nataliya Volodimirivna.*

Candidata of Agricultural Science

TROPHIC AND HORMONAL DETERMINANTS OF ONTOGENESIS *ACTINIDIACHINENSIS* VAR. *DELICIOSA* (A.CHEV.) IN VITRO AT THE CULTIVATION STAGE

¹*Подгаєцький Анатолій Адамович*

д. с.-г. н., професор

²*Мацкевич В'ячеслав Вікторович*

к. с.-г. н., доцент

²*Філіпова Лариса Миколаївна*

к. с.-г. н., доцент

Скрипченко Надія Василівна

к. б. н., с. н. с.

¹*Кравченко Наталія Володимирівна*

к. с.-г. н., доцент

¹*Сумський національний аграрний університет,
м. Суми, вул. Г. Кондратьєва 160, Україна, 40021*

²*Білоцерківський національний аграрний університет,
м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1, Україна*

³*Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України,
м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1, Україна*

ТРОФІЧНІ ТА ГОРМОНАЛЬНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ОНТОГЕНЕЗУ *ACTINIDIACHINENSIS* VAR. *DELICIOSA* (A.CHEV.) IN VITRO НА ЕТАПІ МУЛЬТИПЛІКАЦІЇ

Abstract. The results of research to determine the composition of the nutrient medium for the multiplication of *Actinidiachinensis* var. *deliciosa* (A.Chev.) in vitro to study trophic and hormonal determination of ontogenesis. The specific reaction of four varieties to different environments by plant height, reproduction rate was revealed. The use of the developed nutrient medium allowed to increase the value of the indicators during six subcultures,

with a decrease in the difference between varieties. The same applied to the survival of test tube plants in a humid chamber on the 30th day of postseptic adaptation. Different reactions of varieties to the use of cytokinins: benzylaminopurine (BAP), kinetin and forchlorphenorone (CT-30). The largest plant height, leaf width, reproduction rate and the smallest proportion of vitrified plants were found using the latter in the variety KCSV. An increase in the reproduction rate, a decrease in the proportion of vitrified plants took place with the use of BAP (0.25 mg / l) + kinetin (0.5 mg / l). In both varieties: KCSV and Favorit, the use of gibberellin acid (GK3) in successive passages (up to the 5th) helped to increase the reproduction rate and reduce the proportion of vitrified plants.

Анотація. Наведені результати досліджень з визначення складу живильного середовища для мультиплікації *Actinidiachinensis* var. *deliciosa* (A.Chev.) *in vitro* з метою дослідження трофічної та гормональної детермінації онтогенезу. Виявлена специфічна реакція чотирьох сортів на різні середовища за висотою рослин, коефіцієнтом розмноження. Використання розробленого живильного середовища дозволило впродовж шести субкультивувань збільшувати величину прояву показників, причому із зменшенням різниці між сортами. Аналогічне стосувалось приживлюваності пробіркових рослин в умовах вологої камери на 30-й день постасептичної адаптації. Виявлена різна реакція сортів на використання цитокінінів: бензиламінопурину (БАП), кінетину і форхлорфенорону (КТ-30). Найбільша висота рослин, ширина листка, коефіцієнт розмноження і найменша частка вітріфікованих рослин виявлена за використання останнього у сорту ККСВ. Збільшення коефіцієнта розмноження, зменшення частки вітріфікованих рослин мало місце за використання БАП (0,25 мг/л) + кінетин (0,5 мг/л). У обох сортів: ККСВ і Фаворит використання гібереллової кислоти (ГК₃) за послідовних пасажів (до 5-го) сприяло підвищенню коефіцієнта розмноження та зменшення частки вітріфікованих рослин.

Key words: kiwi, mineral nutrition, microclonal reproduction, vitrification, reproduction coefficient, regenerant height, leaf width, phytohormones.

Ключові слова: ківі, мінеральне живлення, мікроклональне розмноження, вітріфікація, коефіцієнт розмноження, висота регенеранта, ширина листка, фітогормони.

Постановка проблеми. Розширення асортименту рослин для отримання оригінальної продукції завжди свідчило про підвищення добробуту населення. Як наслідок – перехід раніше малопоширених ботанічних видів рослин в Україні з аматорських і суто наукових ділянок в нішеві культури і значні промислові плантації. Незважаючи на відпрацювання різних агроприймів, їх поширення стримується недостатньою кількістю посадкового матеріалу, сортів, створених селекціонерами для різних ґрунтово-кліматичних умов України.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Розроблено підходи до введення в асептичні умови та мультиплікації регенерантів *in vitro* окремих мало поширених культур [1], проте потребують подальшого удосконалення трофічні детермінанти для досягнення стабільного і тривалого мікроклонального та постасептичного розмноження. Зокрема, необхідною є розробка середовища, на якому рослини впродовж багатьох субкультивувань зберігали б темпи регенерації й росту і успішно вкорінювались під час адаптації. Це пов'язано з тим, що як дефіцит так і надлишок елементів живлення, екзогенних гормонів проявляють негативну дію на рослину. І особливо це спостерігається в обмеженому культуральним посудом субстраті (пробірка або теплична касета). Такий ефект може накопичуватись і передаватися з покоління в покоління [4]. Частково цю проблему вирішують зміною прописів живильного середовища або періодичним висаджуванням на «розвантажувальне середовище» із зменшеним вмістом мінеральних елементів та біологічного

активних речовин [2]. Цей підхід, однак, не дозволяє проводити розмноження в промислових масштабах і ускладнює маркетинг усього процесу.

Тому **метою** нашого дослідження була розробка пропису живильного середовища із кількісним і якісним складом мінеральних елементів на якому можна було б живцювати ківі впродовж багатьох субкультивувань. Прикладом підбору такого живильного середовища може бути розроблене в Інституті картоплярства НААН для культивування сортів картоплі *in vitro* 15-20 і більше років [5].

Методика. Дослідження проводились за загальноприйнятими методиками з мікроклонального розмноження [2] та власними розробками [1, 3]. Використано чотири сортозразки ківі: Ківі Карпат Стратона Валентайн (ККСВ) зеленоплідний сорт, частково самоплідний; Аурум Карпат Стратона I (АКС I) жовтоплідний сорт, жіноча форма; Фаворит - чоловіча форма за терміном цвітіння придатна для запилення зеленоплідних ківі; Ботанічна-1 - жіноча форма зеленоплідного ківі. Рослини вітчизняної селекції, походять з двох регіонів України: ККСВ і АКСІ селекціонер Г.В. Стратон (м. Ужгород, Закарпатська обл.); Фаворит і Ботанічна-1 - відібрані перспективні форми, селекціонер Н.В. Скрипченко (ЦНБС ім. М.М. Гришко, м. Київ).

У дослідях використано живильні середовища чотирьох прописів (табл. 1): Куаріна і Лепувра (QL), Мурасіге і Скуга (MS) [2], власний пропис (МК) [1] та його модифікація (Мод). Для їх приготування використовувалась вода очищена зворотнім осмосом.

Таблиця 1.

Відмінності в складі штучних живильних середовищ, мг/л

Компонент	QL	MS	МК	*Мод.
Макросолі				
NH ₄ NO ₃	400	1650	1250	417
KNO ₃	1800	1900	1100	367
KH ₂ PO ₄	270	170	970	324
MgSO ₄ x 7H ₂ O	360	370	770	257
Ca(NO ₃) ₂ x 4H ₂ O	834	-	440	293
CaCl ₂ x 2H ₂ O	-	440	-	-
FeSO ₄ x 7H ₂ O		27,8		18,5
Na ₂ EDTA x 2H ₂ O		37,3		24,9
Мікросолі за прописом Мурасіге і Скуга				
Кінетин - згідно схем дослідів				
БАП - згідно схем дослідів				
КТ-30 - згідно схем дослідів				
Індолілмасляна кислота; на етапі мультиплікації - 0,2 мг/л; 0,5 мг/л для індукції ризогенезу.				
Вітамін В ₁ 1,6				
Вітамін В ₆ 1,0				
Вітамін С 3,0				
Вітамін РР 1,0				
Гліцин 1,0				
Сахароза 30000				
Агар 7000				

* Скороченню "Мод" відповідає модифікація середовища МК, яке було раніше розроблене [1].

Порівняно ефективність застосування на етапі мультиплікації трьох класів цитокінінів: кінетин, бензиламінопурин і форхлорфенурон. Останній дозволений в США для використання на плантаціях ківі ще називають КТ-30 або CPPU-4[6]. Також на цьому етапі випробувано ефективність гібереліну у виді гіберелової кислоти (ГК₃). Для індукції ризогенезу додавали індолілмасляну кислоту (ІМК) 0,5 мг/л.

Культивування експлантів проводили за температури 24⁰С у світлових кімнатах у ємностях об'ємом 250 мл з прозорими поліпропіленовими кришками. В кожній ємності росло по п'ять регенерантів. Освітлення 1,7 кЛюкс, 16 годинний освітлювальний період. Тривалість між субкультивуваннями 45 днів.

Вихідні рослини для початку досліджень підтримувались у колекції на середовищі MS із

зменшеним у двічі вмістом мінеральних елементів (1/2MS) із субкультивуванням через 60 днів. Також вихідні рослини для вивчення дії гормонів культивувались на середовищі без цитокінінів і гіберелінів.

Результати дослідження та обговорення. Трофічна детермінація онтогенезу регенерантів з експлантів проявляється на 4-5 субкультивування за зміни складу елементів живлення в середовищі [3]. Тобто, реакція регенерантів на не збалансоване середовище і відновлення нормального стану відбувається не відразу після пересадки на нове середовище (табл. 2). Це, зокрема, проявляється і в таких показниках, як висота пагону і кількість міжвузлів, що при живцюванні одновузловими живцями можна вважати, як коефіцієнт розмноження. Ці показники є важливими на етапі мультиплікації.

Таблиця 2.

Детермінація росту пагону за культивування на середовищах з різним умістом елементів живлення

Сортозразок	Показник	QL		MS		МК	
		пасаж		пасаж		пасаж	
		1	5	1	5	1	5
Фаворит	висота рослин, мм	62	33	38	31	61	53
	коефіцієнт розмноження	2,7	2,4	2,1	1,1	3,1	2,3
Ботанічна-1	висота рослин, мм	67	61	37	32	57	52
	коефіцієнт розмноження	2,9	2,6	2,3	1,3	2,5	1,9
ККСВ	висота рослин, мм	59	46	27	23	34	31
	коефіцієнт розмноження	2,7	2,4	1,6	1,4	2,2	2,0
АКСІ	висота рослин, мм	52	40	25	19	32	26
	коефіцієнт розмноження	2,1	1,8	1,9	1,4	1,9	1,3

За згаданими показниками регенеранти за першого культивування на середовищах QL і МК не значно відрізнялись і переважали рослини на

середовищі MS. З кожним субкультивуванням різниця між усіма варіантами зростала. Зокрема, в сорту Фаворит за п'ятого розмноження найвищі

регенеранти були на середовищі МК з коефіцієнтом розмноження 2,3. Порівняно з першим живцюванням висота зменшилась тільки на 8 мм.

Зниження висоти рослин супроводжувалось ознаками, які властиві рослинам за надлишку макроелементів, зокрема нітрогену. Це надмірно інтенсивне зелене забарвлення листків, потовщені листкові пластинки із ознаками гіпергідратації. Пагін товстий вкорочений. У багатьох рослин верхівка пагона відмирала, що є наслідком блокування азотом доступу кальцію. Такі регенеранти технологічно були не придатними як для подальшої мультиплікації, так і для висадки в субстрат під час постсептичної адаптації.

Знизилась висота рослин також у інших варіантах: з 62 до 33 мм на середовищі QL і з 38 до 31 мм на середовищі MS. Реакція різних сортів на живильне середовище суттєво не відрізнялась. Найвищими за першого живцювання були рослини Ботанічна-1 (67 мм), а найнижчими АКСІ (52 мм). Після п'яти субкультивувань більш виражену реакцію через зниження висоти регенерантів, як

реакції на надлишок елементів живлення, мали сорти ККСВ і АКСІ.

З урахуванням отриманих даних нами було розроблено ряд прописів модифікованого середовища. За попередніх порівнянь виокремлено наступний, у якому, порівняно з МК, вміст солей із макроелементами NH_4NO_3 , KNO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ зменшено в тричі. Уміст $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ і хелату заліза ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ в суміші з $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$) зменшено на 1/3. Кислотність середовища знаходилась в межах рН 5,5-5,9, що досягали додаванням 8-10 мл одномолярного розчину КОН (56 г. солі КОН на літр води).

Впродовж перших субкультивувань відмічено поступові зміни у висоті пагону та кількості міжвузлів (табл. 3, рис. 1). Так, у рослин сорту Ківі Карпат Стратона Валентайн висота пагона зросла з 37 мм до 78-81 мм при четвертому - шостому субкультивуваннях. У інших досліджуваних сорторозрідків стабілізація висоти пагону і кількості міжвузлів відбулась після 3-4 субкультивувань.

Таблиця 3.

Стабілізація росту регенерантів на модифікованому середовищі після культивувань на середовищі з високим умістом мінеральних поживних речовин

Сорторозрідок		субкультивування					
		1	2	3	4	5	6
Фаворит	висота рослин, мм	60	67	79	77	76	81
	коефіцієнт розмноження	3,2	3,6	4,1	4,3	4,0	4,1
Ботанічна-1	висота рослин, мм	57	69	77	80	78	79
	коефіцієнт розмноження	2,5	3,1	3,9	4,1	4,0	4,1
ККСВ	висота рослин, мм	37	43	58	79	78	81
	коефіцієнт розмноження	2,3	3,1	3,9	4,2	4,1	4,2
АКСІ	висота рослин, мм	29	33	34	49	68	67
	коефіцієнт розмноження	1,8	1,9	2,1	3,3	3,9	3,8



Рис. 1. Вплив концентрації мінеральних елементів на розвиток пагону ківі, сорт Ківі Карпат Стратона Валентайн. Ліворуч повний набір солей, праворуч - зменшений вміст (модифіковане середовище).

Приживлення і приріст пагону за постасептичної адаптації регенерантів досліджуваних варіантів без індукції ризогенезу також залежала від кількості субкультивувань на модифікованому середовищі (табл. 4). У сорту ККСВ в рослин після третього субкультивування

приживлюваність становила більше 74 %, а в інших сортозразків була менше 50 %. У регенерантів отриманих після шостого субкультивування сортів Фаворит і ККСВ приживлюваність становила 90 % і більше. У сортів Ботанічна I і АКСІ прижилося 74 і 71% рослин *in vitro*, відповідно.

Таблиця 4.

Приживлюваність рослин ківі в умовах вологої камери на 30 день постасептичної адаптації залежно від кількості субкультивувань на модифікованому середовищі

Сортозразок		субкультивування					
		1	2	3	4	5	6
Фаворит	приживлюваність, %	19	38	46	85	91	90
	приріст пагону, мм	11	27	57	62	61	63
Ботанічна-1	приживлюваність, %	13	23	36	69	73	74
	приріст пагону, мм	9	10	23	38	39	47
ККСВ	приживлюваність, %	27	51	74	89	92	92
	приріст пагону, мм	18	36	53	54	59	61
АКСІ	приживлюваність, %	8	11	32	51	65	71
	приріст пагону, мм	6	12	27	29	33	32

Після оптимізації вмісту макроелементів проведено підбір екзогенних гормонів. На етапі мультиплікації порівняли цитокініни: бензиламінопурин (БАП), кінетин і форхлорфенурон (КТ-30). Бензиламінопурин і кінетин є похідними 6-амінопурину, а КТ-30 похідною феніл сечовин, яким властивий також цитокініновий ефект. За попереднього добору концентрацій встановлено, що для БАП оптимальною була 0,50 мг/л, кінетину 1,0 мг/л і 1,5 мг/л для КТ-30.

Встановлено відмінності в онтогенезі регенерантів за різних цитокінінів (рис. 2). На середовищах з БАП рослини *in vitro* мали дрібні ланцетоподібні листки. Цей гормон, серед трьох порівнюваних, сприяв найвищому коефіцієнту розмноження. Залежно від біологічних особливостей він становив від 2,7 (АКСІ) до 3,3 (ККСВ). Однак, у цьому варіанті найбільшою виявилась кількість рослин з ознаками гіпергідратації тканин (65-98%), яку ще називають як надмірна обводненість або скляніння чи вітрифікація. У випадку з БАП проявлявся фітотоксичний ефект, пов'язаний з розтягуванням клітинних стінок і, як наслідок, легкої проникності води в клітину [3]. З покоління в покоління цей токсичний ефект лише підсилювався і вже після третього-четвертого пасажу становив 100%.

Регенеранти на середовищі з КТ-30 відрізнялись візуально за наявністю в базальній частині пагона “калосної шишки”. Цей калюс був білим або світлозеленим, помірно пухким. Стебло і листові черешки, порівняно з такими на інших варіантах, відрізнялись більшими розмірами, та більшим опушенням. У цілому, рослини *in vitro* на середовищі з форхлорфенуроном були схожі на весняні ювенільні пагони ківі *in vivo*, які утворюються після пробудження рослин у відкритому ґрунті. Рослина формувалась у один пагін. Конгломератів пагонів, які спостерігались у інших варіантах, не виявлено. Це та мала кількість міжвузлів були причинами найменшого коефіцієнта розмноження (2,0-2,2). Вказана величина була близькою до контролю без цитокінінів.

Цитокініни стимулюють ріст листової пластинки і пробуджують сплячі бруньки та виконують інші морфорегулюючі функції. Для успішного вирішення певних завдань досить часто гормон використовується в різних формах [4]. Це є одним з пояснень неоднакової дії синтетичних цитокінінів. Зокрема, кінетин і КТ-30, порівняно з БАП, стимулюють розростання листової пластинки, але коефіцієнт розмноження з причини пробудження меншої кількості бруньок виявився нижчим.

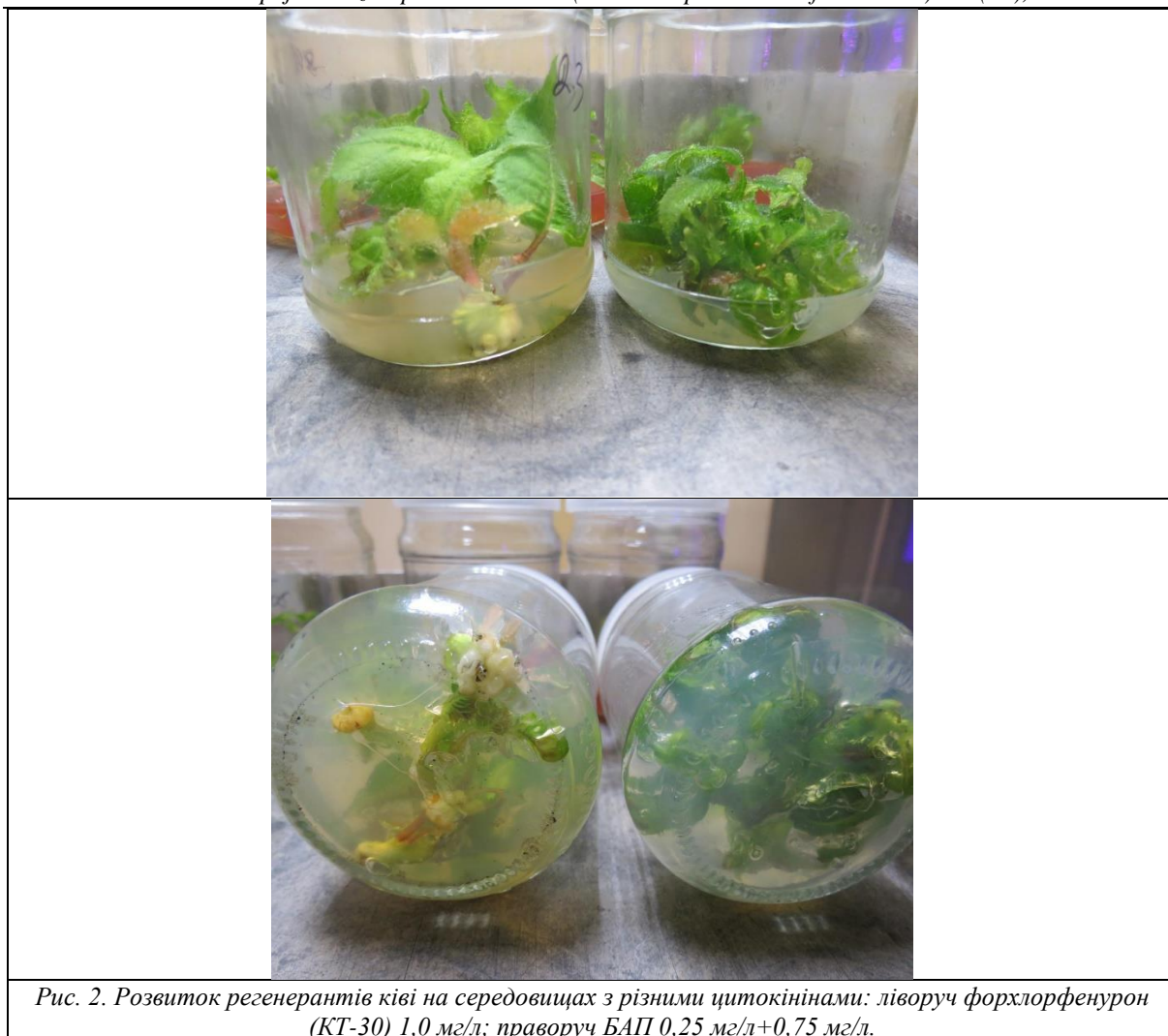


Рис. 2. Розвиток регенерантів ківі на середовищах з різними цитокінінами: ліворуч форхлорфенурон (КТ-30) 1,0 мг/л; праворуч БАП 0,25 мг/л+0,75 мг/л.

Таблиця 5.

Вплив цитокінінів на розвиток пагону ківі *in vitro* на 30 день спостережень

Сортозразок	Варіант	Висота, рослин, мм	Ширина листка, мм	*Коефіцієнт розмноження	Вітрифікованих, %
Фаворит	контроль	50	22	1,9	2
	БАП	34	9	3,2	77
	кінетин	49	19	2,6	16
	КТ-30	51	28	2,0	5
Ботанічна-1	контроль	44	16	1,8	7
	БАП	28	8	3,0	94
	кінетин	35	14	2,2	21
	КТ-30	39	27	1,9	7
ККСВ	контроль	69	27	2,0	3
	БАП	39	7	3,3	65
	кінетин	57	24	2,5	11
	КТ-30	64	32	2,2	3
АКСІ	контроль	58	20	1,6	6
	БАП	32	7	2,7	98
	кінетин	51	20	2,3	31
	КТ-30	59	29	1,9	14

*Коефіцієнт розмноження вираховували за кількістю міжвузлів, на які можна було розділити окремий пагін або конгломерат пагонів донорної рослини.

Кінетин за досліджуваними показниками займав проміжне положення між БАП і КТ-30. Варіант із додаванням БАП забезпечував

найбільший коефіцієнт розмноження, але, порівняно з іншими варіантами, поступався їм через високий відсоток вітрифікованих рослин.

Інші гормони обумовлювали нижчий коефіцієнт розмноження, але переважали БАП за розмірами листка і мали меншу величину вітрифікації. У варіанті із застосуванням КТ-30 спостерігалось утворення калюсного напливу в базальній частині

пагону. Тому нами випробувано сумісне застосування кінетину і БАП (табл. 6). Для цього поєднано половинні концентрації БАП і кінетину з попередніх дослідів: 0,25 і 0,5 мг/л відповідно.

Таблиця 6.

Вплив бензиламінопурину, кінетину і їх поєднання на коефіцієнт розмноження ківі *in vitro*

Сортозразок	Цитокінін	Коефіцієнт розмноження		Вітрифікованих регенерантів, %	
		1 пасаж	5 пасаж	1 пасаж	5 пасаж
ККСВ	БАП 0,5 мг/л	3,3	3,0	67	89
	Кінетин 1,0 мг/л	2,4	2,9	13	9
	БАП (0,25 мг/л) + кінетин (0,5 мг/л)	3,0	3,9	18	9
Фаворит	БАП 0,5 мг/л	3,2	2,8	74	96
	Кінетин 1,0 мг/л	2,7	2,7	17	11
	БАП (0,25 мг/л) + кінетин (0,5 мг/л)	3,0	3,6	19	13

Вище описана повільна реакція регенерантів ківі на зміну вмісту мінеральних елементів. Рослини стабілізували свій ріст й розвиток вже в п'ятому поколінні. Тому облік коефіцієнта розмноження і наявності регенерантів із ознаками гіпергідратації проводили при першому і п'ятому пасажах (субкультивуваннях).

Отримані дані свідчили про збільшення коефіцієнта розмноження за використання різних цитокінінів, та в деяких варіантах зниження кількості вітрифікованих рослин. Стоєвно біологічних особливостей сортів, то вони майже не вплинули на величину коефіцієнта розмноження, але була суттєвою різниця в кількості вітрифікованих регенерантів. У сорту Ківі Карпат Стратона Валентайн, порівняно з Фаворит, було менше вітрифікованих регенерантів в усіх варіантах з різними гормонами.

Для зменшення кількості рослин з ознаками гіпергідратації використовували додавання таких компонентів: активоване вугілля (2,0; 2,5 і 3,0 г/л); нітрат срібла (3,0 і 5,0 мг/л) та гіберелін (0,5; 0,75; 1,0 і 1,5 мг/л). Застосування активованого вугілля негативно вплинуло на ріст регенерантів, що проявилось у вкороченні пагонів, надмірному збільшенні розмірів листкової пластинки і вповільненні росту.

Відомо, що срібло є інгібітором утворення етилену, як одного з можливих факторів вітрифікації. Також срібло на інших культурах збільшувало листову пластинку та вкорочувало пагін [3]. На чотирьох сортозразках ківі нами встановлено лише вплив елемента на збільшення листової пластинки. Істотного зменшення довжини пагону і відсотку вітрифікованих регенерантів не виявлено.

Серед геберелінів використано гіберелову кислоту (ГК₃). За попереднього порівняння її концентрації встановлено, що варіант 0,5 мг/л не суттєво відрізнявся від контролю. Додавання ГК₃ в кількостях 0,75; 1,0 не відрізнялося між собою. У варіанті з концентрацією 1,5 мг/л за п'ятого субкультивування відзначалось уповільнення росту експлантів ізольованих з донорних рослин, що виростили на цьому варіанті. Тому, прийнято до роботи концентрацію 0,75. На цьому варіанті (табл. 7.) у обох сортозразків зростав коефіцієнт розмноження у першу чергу за рахунок видовження вкорочених міжвузлів. Також у регенерантів кількість вітрифікованих зменшувалась до межі статистичної похибки – від одного до трьох відсотків.

Таблиця 7.

Вплив гібереліну на коефіцієнт розмноження ківі *in vitro*

Сортозразок	Варіант	Коефіцієнт розмноження		Вітрифікованих регенерантів, %	
		1 пасаж	5 пасаж	1 пасаж	5 пасаж
ККСВ	Контроль	3,1	3,9	17	10
	3 ГК ₃	3,7	4,2	6	1
Фаворит	Контроль	3,0	3,5	18	15
	3 ГК ₃	3,3	3,6	9	3

Контроль – без гібереліну на фоні БАП (0,25 мг/л) + кінетин (0,5 мг/л)

Висновки.

При вивченні трофічних та гормональних детермінант розроблено пропис штучного живильного середовища на етапі мультиплікації для ківі з робочою назвою "Середовище Мацкевича і Подгаєцького" з наступним складом в мг/л.

Макросолі: NH₄NO₃ – 17; KNO₃ – 367; KH₂PO₄ – 324; MgSO₄ x 7H₂O – 257; Ca(NO₃)₂x4H₂O – 293 (маточний розчин кальцію готується окремо і додається перед безпосереднім приготуванням середовища). Мікросолі за прописом Мурасіге і Скуга. Цитокініни: БАП (0,25 мг/л) + кінетин (0,5

мг/л). Ауксин – ІМК в кількості 0,2 мг/л. Гіберелін (ГКЗ) – 0,75 мг/л. Вітаміни (в мг/л): В₁ – 1,6; В₆ – 1,0; С – 3,0; РР – 1,0. Інші органічні добавки: амінокислота гліцин – 1,0 мг/л, сахароза 30 г/л, агар 7,0 г/л. Кислотність середовища – рН 5,5-5,7.

Список використаної літератури

1. Скрипченко Н.В. Особливості мікроклонального розмноження представників роду *Actinidia* / Скрипченко Н.В., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Кибенко І.І. // Інтродукція рослин: Міжнародний науковий журнал. 2017. N 1. С. 88-96.

2. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. – К.: Наукова думка, 2005. 267 с.

3. Подгаєцький А.А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин : монографія / А.А. Подгаєцький, В. В. Мацкевич,

А.Ан. Подгаєцький. – Біла Церква : БНАУ, 2018. 209 с.

4. Терек О.І. *Ріст і розвиток рослин*: навч. посібник /О.І. Терек, О.І. Пацула. - Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2011. 328 с.

5. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею Купенко В.С., Осипчук А.А., Подгаєцький А.А. та ін. Немішаєве. 2002. 184 с.

6. Форхлорфенурон <https://ru.qwe.wiki/wiki/Forchlorfenuron>

The Effects of COVID-19 on Some Liver Enzymes Patients At Al Furat General Hospital In Baghdad

Author 1: Mustafa Tareq Shanshool

Author 2: Estbraq Tareq Shanshool

Author 3: Dhurgham Fahad Ftak Al_Ghuraibawi

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

УДК: 616.36-003.825-078:57. 083.3

ГРНТИ: 76.29.29

Babak O.Ya.*doctor of medicine, professor of the department of internal medicine #1,
Kharkov National Medical University***Aleksandrova T.N.***assistant of the department of internal medicine #1,
Kharkov National Medical University*

CLINICAL SIGNIFICANCE OF PENTRAXIN-3 AND C-REACTIVE PROTEIN IN THE DIFFERENTIATION OF STAGES OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Бабак Олег Яковлевич*доктор медицинских наук, профессор кафедры внутренней медицины №1
Харьковский национальный медицинский университет***Александрова Татьяна Николаевна***ассистент кафедры внутренней медицины №1
Харьковский национальный медицинский университет*

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПЕНТРАКСИНА-3 И С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА В ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИИ СТАДИЙ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Summary. The object of this research was to investigate clinical usefulness of Pentraxin-3 and C-reactive protein plasma levels in differentiation of stages of nonalcoholic fatty liver disease. It has been established that the level of pentraxin-3 and C-reactive protein in blood plasma is significantly increased in the group of patients with nonalcoholic steatohepatitis compared with group of patients with steatosis and control group.

Аннотация. Целью работы являлось изучение клинической значимости пентраксина-3 и С-реактивного белка сыворотки крови в дифференцировании стадий неалкогольной жировой болезни печени. Было установлено, что уровень пентраксина-3 и С-реактивного белка в плазме крови был значительно повышен в группе пациентов с неалкогольным стеатогепатитом в сравнении с группой пациентов в стадии стеатоза печени и группой контроля.

Key words: *nonalcoholic fatty liver disease, liver steatosis, non-alcoholic steatohepatitis, pentraxin-3, C-reactive protein*

Ключевые слова: *неалкогольная жировая болезнь печени, стеатоз печени, неалкогольный стеатогепатит, пентраксин-3, С-реактивный белок*

Introduction. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease in the world, showing a variety of histopathological findings ranging from simple steatosis to nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and cirrhosis [1]. Patients with NAFLD have the potential to develop fibrosis and cirrhosis leading to portal hypertension, liver decompensation, and even hepatocellular carcinoma [2,3].

NASH can be differentiated from simple steatosis by liver biopsy and is diagnosed when all of the following three criteria are met: macrovesicular fatty change of hepatocytes, inflammatory cell infiltration, and ballooning degeneration of hepatocytes [4]. Lipid accumulation in hepatocytes can lead to inflammation within them. Accordingly, significant fibrosis can cause cirrhosis over a period of 10-20 years, but the pathophysiology is not well understood yet [5]. However, liver biopsy is invasive, has drawbacks such as sampling error and cost, and it is not applicable for all patients [6].

Determining stage of NAFLD is essential for identifying prognosis and treatment decisions. Distinguishing pure steatosis from NASH is an important issue, as pure steatosis has benign prognosis while NASH can potentially lead to liver fibrosis [7]. A new composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of NASH in morbidly obese patients. So, early diagnosis of NASH is of great value. Currently, percutaneous liver biopsy remains the gold standard in evaluating liver histology and diagnosis of NASH. However, there are some limitations regarding performing biopsy such as being invasive, expensive and carrying sampling errors [8].

In patients with NAFLD, the progression from simple steatosis to NASH and cirrhosis is characterized by cellular injury from oxidative stress and cytokine-driven intrahepatic inflammation [9]. There are studies suggesting that the intrahepatic inflammation associated with NAFLD may be linked to systemic elevations in inflammatory biomarkers, such as C-reactive protein (CRP) [10] and novel marker for

NASH - Pentraxin-3 [11]. The classical short pentraxins, CRP are acute-phase proteins that are manufactured in the liver under the guidance of inflammatory cytokines [12]. Despite similarities of action, Pentraxin-3 differs from CRP in many basic aspects, such as gene organization, chromosomal localization, cellular sources, inducing stimuli, and the recognized ligands [13]. The levels of plasma Pentraxin-3 are found higher than normal controls in various inflammatory conditions such as rheumatologic disorders [14], asthma [15], coronary artery diseases [16] and systemic inflammation and sepsis [17]. Because NASH is also an ongoing inflammatory condition, we hypothesized that plasma Pentraxin-3 levels increase in patients with NASH.

The aim of the study was to investigate clinical usefulness of CRP and Pentraxin-3 plasma levels in differentiation of stages of NAFLD.

Materials and methods. The study was conducted on the Department of Gastroenterology of the State Institution "National Institute of Therapy named after L.T. Malaya of Ukraine", and on the therapeutic department of the Municipal Health Institution "Lozovsky Territorial Medical Association, Ukraine". This study was approved by the ethics commission of Kharkov National Medical University, Ukraine, in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association "Ethical principles of medical research with human participation as the object of study" in 1964 (revision in 2008). Patients included in the study signed an informed consent to participate in the study. The study was conducted as part of research work of the Department of Internal Medicine №1 Kharkov National Medical University "Clinical significance of markers of inflammation and metabolic disorders in patients with nonalcoholic fatty liver disease » registration № 015U000236.

40 patients with NAFLD were examined. They were divided into 2 groups: group 1 included 15 patients with hepatic steatosis (8 men and 7 women, average age of 41 ± 4.6 years), and group 2 included 25 patients with NASH (13 men and 12 women, average age of 42 ± 3.2 years). Control group (group 3) was formed of 20 apparently healthy people (9 men and 6 women, average age of 40 ± 2.9 years).

Inclusion criteria were the following: persistently (at least 6 months) elevated aminotransferases, presence of ultrasonography brightness in liver without any other liver or biliary tract disease.

Exclusion criteria were the following: consume more than 20 g of ethanol daily, serologically

confirmed liver infectious diseases (including viral hepatitis A, B and chronic hepatitis C), primary biliary cirrhosis, sclerosing cholangitis, chronic inflammatory diseases, chronic cardiac insufficiency, autoimmune rheumatologic diseases (that may also increase pentraxin-3 level in blood), thyroid disorders, oncology diseases, renal insufficiency. Pregnant women, as well as aged over 55 years were also excluded from the research.

The Ethics Committee of the Kharkov National Medical University approved the study and all participants gave their consent to the study, which was conducted according to the Helsinki Declaration Biological measurements.

NAFLD was diagnosed in accordance with the criteria of the European Association for the Study of the Liver (EASL), the European Association for the Study of Diabetes (EASD) and the European Association for the Study of Obesity (EASO).

The level of Pentraxin-3 was determined according to the enzyme multiplied immunoassay method using Human Pentraxin-3 ELISA KIT produced by Multisciences (Lianke) Biotech Co. (China) with Immunochem-2100 immunoenzymometric analyzer (USA).

CRP level was determined by the photometric turbidimetric method by utilizing Beckman Coulter AU480 biochemical analyzer (USA).

The results statistical processing was performed with Microsoft Office Excel 2013 and Statistica 13.1 computer programs on a personal computer with the use of parametric (Student's t-test) and non-parametric (Mann-Whitney U-test) statistical methods. The relationship between variables was analyzed using Spearman's correlations. A p-value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Results and their discussion. The main clinical and biochemical characteristics of the NAFLD patients and control subjects are shown in Table 1. It was found that the average level of systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) in patients with NASH was slightly higher in comparison with the group of patients with hepatic steatosis, and significantly higher in comparison with the control group.

Thus, the SBP level was (128 ± 7.4) Mmhg in group 1, (138 ± 10.5) Mmhg in group 2, and (115 ± 9.1) Mmhg in the control group ($p < 0.05$). The DBP level was, respectively: (88 ± 7.5) Mmhg in group 1, (96 ± 8.1) Mmhg in group 2, and (77 ± 8.4) Mmhg in the control group ($p < 0.05$).

Table 1

The studied patient groups anthropometric characteristics

Patient groups Parameters	Group NAFLD with steatosis (n = 15)	Group NAFLD with NASH (n=25)	Control group (n = 15)	p*
Sex m/f, %	53.3/46.7	52/48	45/55	>0.05
Age	41±4.0	42±4.8	41±5.0	>0.05
BMI, kg/m ²	26.1±1.2	28.3±1.7	24.1±1.7	<0.05
Waist circumference, cm	101±7.2	106±6.1	84.2±8.3	<0.05
Hip circumference, cm	95±0.2	105±0.1	77±0.2	<0.05
SBP, Mmhg	128±7.4	138 ±10.5	115±9.1	<0.05
DBP, Mmhg	88±7.5	96±8.1	77±8.4	<0.05

***Note:**

The difference from the control group parameters is statistically significant (p < 0.05).

BMI — body mass index;

SBP — systolic blood pressure;

DBP — diastolic blood pressure.

The studied patient's main clinical and biochemical characteristics are shown in Table 2.

Table 2

The studied patient's main clinical and biochemical characteristics

Parameters	Group NAFLD with steatosis (n = 15)	Group NAFLD with NASH (n=25)	Control group (n = 15)
Glucose, umol/l	5.6 ±1.1 p ¹ < 0.01	5.8 ±1.3 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	4.1 ±1.6
Insulin, m/mL	23.4 ±3.3 p ¹ < 0.01	24.2 ±2.1 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	15.4±3.7
HOMA-IR	5.8 ±0.6 p ¹ < 0.01	6.2 ±0.5 p ¹ < 0.05 p ² < 0.05	2.8 ±0.6
AST, U/L	43.1 ±10.2 p ¹ < 0.01	56.3 ±12.6 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	22.1 ±11.4
ALT, U/L	65±21.3 p ¹ < 0.01	82.3±20.4 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	21.3±12.3
Total cholesterol, mg/dL	5.0±0.8 p ¹ < 0.01	6.1±0.7 p ¹ < 0.05 p ² < 0.05	4.8±0.9
LDL-C, mg/dL	5.9±1.9 p ¹ < 0.01	6.4±2.3 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	4.1±1.5
HDL-C, mg/dL	1,5±2,5 p ¹ < 0.01	1,1±2,3 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	2,6±1,3
TG, mg/dL	5.4±1.7 p ¹ < 0.01	6.3±1.5 p ¹ < 0.05 p ² < 0.05	1.6±0.7
CRP, mg/L	3.8±3.1 p ¹ < 0.01	4.3±2.9 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	0.4±0.58
Pentraxin-3 ng/mL	254.35±44.4 p ¹ < 0.01	453.9±35.86 p ¹ < 0.01 p ² < 0.05	53.2±14.3

Note:

p¹ - the probability of changes compared to the control group;

p² - the probability of changes in the group NAFLD with steatosis compared to the group NAFLD with NASH;

HOMA-IR, homeostasis model assessment of insulin resistance;
 ALT - alanine aminotransferase;
 AST - aspartate aminotransferase;
 LDL-C - Low-density lipoprotein cholesterol;
 HDL-C - High-density lipoprotein cholesterol;
 TG - triglyceride;
 CRP- C-reactive protein;

Analyzing the state of studied patient's carbohydrate metabolism, it was found that the level of insulin resistance (IR) was significantly higher in the group of patients with NASH compared to the control group, and slightly higher in comparison with the group of hepatic steatosis. Thus, the average values of the HOMA-IR were (5.8 ± 0.6) in group 1, (6.2 ± 0.5) in group 2, and (2.8 ± 0.6) in the control group. ($p < 0.05$).

Analysis of liver enzymatic activity showed the difference between alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) levels. Thus, the ALT level was (65 ± 21.3) in the liver steatosis group, (82.3 ± 20.4) in the group of patients with NASH and (21.3 ± 12.3) in the control group. The AST levels and were (43.1 ± 10.2) in group 1, (56.3 ± 12.6) in group 2, and (22.1 ± 11.4) in the control group.

A study of the severity of changes in lipid metabolism in patients with NAFLD was carried out. In the group of patients with NASH, a significant increase in all lipid parameters was found, while in patients with steatosis, such differences were found only when comparing the levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and triglyceride (TG). Such changes in the lipid profile are probably associated with the presence of overweight among the population of the studied patients.

Analysis the level of Pentraxin-3 in blood serum showed it's significant increase in the group of patients with NASH compared to the group of patients with hepatic steatosis and to the control group ($p < 0.05$).

Significant increase of CRP level was observed in the group of patients with NASH compared to the control group ($p < 0.05$). However, there were no significant differences in this indicator between the groups of patients with NASH and patients with hepatic steatosis ($p > 0.05$).

This study has some limitations. Firstly, because of the small sample size and the strict inclusion criteria, the findings obtained are not representative for all subjects with NAFLD. Secondly, further prospective studies should be arranged to clarify the cause-and-effect relationship and test whether quantification of pentraxin-3 levels could provide additional information beyond the currently recognized risk factors to predict future cardiovascular events in subjects with NAFLD.

Conclusions. The present study demonstrated higher plasma Pentraxin-3 and CRP levels in patients with NASH than in patients with steatosis and control group. Pentraxin-3 and CRP may be promising biomarkers for the presence of NASH. Further evaluation of plasma Pentraxin-3 levels in larger numbers of NAFLD patients is recommended to assess any possible clinical usefulness for the noninvasive differentiation of stages of NAFLD.

Author Disclosure Statement. No competing financial interests exist.

References:

1. Tiniakos DG, Vos MB, Brunt EM. Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol* 2010; 5:145–171.
2. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123:134–140.
3. Milic S, Stimac D. Nonalcoholic fatty liver disease/steatohepatitis: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation and treatment. *Dig Dis* 2012; 30:158–162.
4. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41:1313–1321.
5. Baranova A, Lal P, Bircerdinc A, Younossi ZM. Noninvasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 91.
6. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38: 1449–1457.
7. Anty R, Iannelli A, Patouraux S, et al. A new composite model including metabolic syndrome, alanine aminotransferase and cytokeratin-18 for the diagnosis of non-alcoholic steatohepatitis in morbidly obese patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1315–1322.
8. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier F, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 1898–1906.
9. Wieckowska A, McCullough AJ, Feldstein AE. Noninvasive diagnosis and monitoring of nonalcoholic steatohepatitis: present and future. *Hepatology* 2007; 46:582–589.
10. Targher G. Relationship between high-sensitivity C-reactive protein levels and liver histology in subjects with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2006; 45:879–881.
11. Yoneda M, Uchiyama T, Kato S, et al. Plasma pentraxin3 is a novel marker for nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 53.
12. Pepys M B, Hirschfield G M. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111:1805–1812.
13. Bottazzi B, Garlanda C, Cotena C, et al. The long pentraxin PTX3 as a prototypic humoral pattern

recognition receptor: interplay with cellular innate immunity. *Immunol Rev* 2009; 227:9–18.

14. Deniz T, Kizilgul M, Uzunlulu M, et al. Levels of Pentraxin 3 and relationship with disease activity in patients with ankylosing spondylitis. *Acta Reumatol Port* 2014; 39:137–142.

15. Zhang J, Shan L, Koussih L, et al. Pentraxin 3 (PTX3) expression in allergic asthmatic airways: role in airway smooth muscle migration and chemokine production. *PLoS One* 2012; 7:1–9.

16. Latini R, Maggioni AP, Peri G, et al. Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;110:2349–2354

17. Muller B, Peri G, Doni A, et al. Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients. *Crit Care Med* 2001; 29:1404–1407.

УДК 614.2

Барзилович А. Д.
кандидат медичних наук,
директор, МЦ «КіндерКлінік»
м. Київ, Україна

ДИНАМІКА РОЗВИТКУ МЕРЕЖІ СПЕЦІАЛІЗОВАНИХ ЛІКАРЕНЬ, ЯК СУБ'ЄКТІВ РИНКУ МЕДИЧНИХ ПОСЛУГ

Barzylovych Anastasiia
PhD in Medical Sciences
Director, mc KinderKlinik

DYNAMICS OF DEVELOPMENT OF THE NETWORK OF SPECIALIZED HOSPITALS AS SUBJECTS OF THE MEDICAL SERVICES MARKET

Барзилович А. Д.
кандидат медицинских наук,
директор МЦ «КиндерКлиник»
Киев, Украина

ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ СЕТИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ БОЛЬНИЦ, КАК СУБЪЕКТОВ РЫНКА МЕДИЦИНСКИХ УСЛУГ

Анотація. У статті виявлено, що держава здійснює безпосередній вплив на забезпечення якісними медичними послугами населення країни. Крім цього, органи державної влади за допомогою нормативно-правової бази створюють належні юридичні умови для ефективного функціонування лікарень, медичних установ та інших закладів охорони здоров'я. Проаналізовано нормативно-законодавчу базу, яка врегульовує питання забезпечення населення медичними послугами. Надано визначення поняттю “спеціалізована лікарня”, а також досліджені думки вчених, щодо виокремлення дефініції даному поняттю. Наведено аналітичні показники наявного стану та розвитку сучасної системи охорони здоров'я в Україні, також проаналізована оцінка рівня вторинної медицини в Україні за регіонами. Виокремлено та проаналізовано оплату надавачам спеціалізованої медичної допомоги за програмою медичних гарантій у 2020 році. Виявлено проблеми та особливості, які виникають в процесі реформування системи охорони здоров'я, враховано можливість розвитку та розгалуження мережі спеціалізованих лікарень, а також запропоновано шляхи вирішення наявних проблем в питаннях розвитку та функціонування спеціалізованих лікарень, покращення надання медичних послуг та реформування системи охорони здоров'я загалом.

Аннотация. В статье выявлено, что государство осуществляет непосредственное влияние на обеспечение качественными медицинскими услугами населения страны. Кроме этого, органы государственной власти с помощью нормативно-правовой базы создают надлежащие юридические условия для эффективного функционирования больниц, медицинских учреждений и других учреждений здравоохранения. Проанализированы нормативно-законодательную базу, которая регулирует вопросы обеспечения населения медицинскими услугами. Дано определение понятию "специализированная больница", а также исследованы мнения ученых относительно выделения дефиниции данному понятию. Приведены аналитические показатели существующего положения и развития современной системы здравоохранения в Украине, также проанализирована оценка уровня вторичной медицины в Украине по регионам. Выделены и проанализированы оплату поставщикам специализированной медицинской помощи по программе медицинских гарантий в 2020 году. Выявлены проблемы и особенности, которые возникают в процессе реформирования системы здравоохранения, учтена

возможность развития и разветвления сети специализированных больниц, а также предложены пути решения имеющихся проблем в вопросах развития и функционирования специализированных больниц, улучшение оказания медицинских услуг и реформирования системы здравоохранения в целом.

Abstract. The article reveals that the state has a direct influence on the provision of quality medical services to the population. In addition, public authorities, with the help of the legal framework, create appropriate legal conditions for the effective functioning of hospitals, medical institutions and other health care facilities. The normative-legal base which will regulate the issue of providing the population with medical services is analyzed. The definition of the term “specialized hospital” is given, as well as the opinions of scientists on the separation of the definition of this concept are investigated. Analytical indicators of the current state and development of the modern health care system in Ukraine are given, as well as the assessment of the level of secondary medicine in Ukraine by regions is analyzed. The payment to the providers of specialized medical care under the medical guarantees program in 2020 is singled out and analyzed. Problems and peculiarities that arise in the process of health care reform are identified, the possibility of developing and branching out a network of specialized hospitals is taken into account, and ways to solve existing problems in the development and operation of specialized hospitals, improving medical services and health care reform are suggested. I in general.

Ключові слова: спеціалізована лікарня, ринок послуг охорони здоров'я, пацієнти, страхові організації, автономізація, надавачі медичних послуг.

Ключевые слова: специализированная больница, рынок услуг здравоохранения, пациенты, страховые организации, автономизация, предоставляющих медицинские услуги.

Key words: specialized hospital, healthcare services market, patients, insurance companies, autonomy, medical service providers.

Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями. В сучасних умовах господарювання та розвитку економіки України важливого значення набувають питання забезпечення відповідних умов для збереження та примноження населення країни. Незаперечними є докази того, що здоров'я громадян є найважливішою складовою соціально-демографічної політики провідних країн світу, зважаючи на дану тенденцію Україна також спрямовує свої ресурси на забезпечення здорової нації. Крім цього, варто врахувати, що здорове населення країни, то є одним з найперших чинників, які формують економічну ситуацію в країні, деякі дослідники переконують, що здоров'я нації є важливішим, аніж його освіченість. Зважаючи на розвиток економік країн світу, то простежується тенденція до того, що система охорони здоров'я здатна впливати на здоров'я населення. Всесвітня організація охорони здоров'я запевняє, що варто створити таку систему охорони здоров'я, яка б могла забезпечити доступність всіх медичних послуг для найбільшпотребуючих верств населення, відповідала останнім критеріям та стандартам, надавала якісні послуги та була безпечною. Саме тому є важливим визначити динаміку розвитку мережі спеціалізованих лікарень як суб'єктів ринку медичних послуг для кращого розуміння проблематики.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вивчення та аналіз існуючих досліджень вітчизняних та зарубіжних науковців свідчить про те, що дана тематика є актуальною, але не досить дослідженою. Основними дослідниками питань, які стосуються формування та розвитку системи охорони здоров'я є наступні: Боднар В. [2], Леонов С.А. [8], Матвеев С.Н. [8], Сон І.М.[8], Ходош Е.М. [15]. Оскільки дана проблематика не є досить

дослідженою, то саме це зумовлює актуальність даного дослідження.

Постановка завдання. Основною метою даного дослідження є аналіз динаміки розвитку мережі спеціалізованих лікарень, як суб'єктів ринку медичних послуг; визначення поняття “спеціалізована лікарня”; визначити місце та роль спеціалізованих лікарень серед інших суб'єктів ринку медичних послуг; надати оцінку рівня вторинної медицини в Україні за регіонами.

Виклад основного матеріалу дослідження. Держава здійснює безпосередній вплив на забезпечення якісними медичними послугами населення країни. Крім цього, органи державної влади за допомогою нормативно-правової бази створюють належні юридичні умови для ефективного функціонування лікарень, медичних установ та інших закладів охорони здоров'я.

Якщо розглядати спроможну мережу надання медичної допомоги, то під останньою варто розуміти організаційно інтегровану сукупність надавачів медичних послуг, які здатні забезпечити надання якісної, комплексної, безперервної, а також орієнтованої на пацієнта медичної допомоги відповідно до соціально-демографічних характеристик населення, а також особливостей його розселення на відповідній території планування [6].

Лікарня - лікувально-профілактичний заклад, призначений для надання стаціонарної медичної допомоги хворим. Лікарня, де надається стаціонарна допомога з однієї лікарської спеціальності, називається спеціалізованою, а з декількох спеціальностей - багатопрофільною. Багатопрофільні і спеціалізовані лікарні у своєму складі можуть мати поліклініку або амбулаторію [7].

У свою чергу, спеціалізовані лікарні включають травматологічні центри, реабілітаційні, дитячі, геріатричний лікарні та лікарні для

вирішення психіатричних, онкологічних, ортопедичних, пульмонологічних та інших проблем.

На сьогодні в Україні наявна слабка нормативно-правова база, яка забезпечує функціонування та визначає особливості роботи спеціалізованих лікарень та надання вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги.

Згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я України "Про затвердження Об'єму надання вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги, що повинен забезпечуватися багатoproфільними лікарнями інтенсивного лікування першого та другого рівня, та Змін до Порядку регіоналізації перинатальної допомоги" №1881 від 19 жовтня 2018 року відповідно до об'єму установлює обсяг надання вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги, який мають забезпечувати багатoproфільні лікарні інтенсивного лікування першого та другого рівнів (далі - БЛІЛ першого та другого рівнів), для забезпечення гарантованого своєчасного доступу населення до послуг вторинної (спеціалізованої), у тому числі екстреної, медичної допомоги належної якості в межах створених госпітальних округів з урахуванням переліку лікарських спеціальностей в БЛІЛ першого та другого рівнів [10].

У листопаді 2019 року в Україні набули автономії 70% закладів, які здійснюють надання спеціалізованої медичної допомоги. Значна частина таких закладів у Полтавській - 97,2%, у Вінницькій - 96,9% та Харківській - 91,8% областях. У м. Києві автономізовано вже 93 спеціалізованих медичних заклади [3].

На разі розпочався другий етап медичної реформи в Україні, тобто з 1 квітня 2020 року лікарні укладають договори із Національною службою здоров'я України відповідно до яких отримують фінансування виключно за надані

послуги для пацієнтів. Кожна надана послуга має свою оплату (тариф). Зважаючи на це, деякі спеціалізовані лікарні відчули нестачу коштів і розпочали протест проти медичної реформи [4]. Крім цього, оплата за послуги спеціалізованої допомоги, а саме на рівні спеціалізованої амбулаторно-поліклінічної допомоги буде здійснюватись по-іншому, тобто відрізнятиметься від оплати послуг на первинному рівні. Основними аспектами наразі є: знану частину коштів буде виплачено як глобальний бюджет, що розрахований на основі попередніх даних, які були надані закладами для проведення розрахунків; перелік пріоритетних послуг, які мають бути оплаченими за заявленими тарифами, тобто ці кошти будуть додані до виплат за глобальним бюджетом [5].

Варто відмітити, що спеціалізовані лікарні, а саме 1619 надавачів медичних послуг у квітні 2020 року отримали майже 4,5 млрд. грн. авансу від Національної служби здоров'я України; 1594 спеціалізовані лікарні отримали понад 4 млрд. грн., 25 екстрених закладів охорони здоров'я - понад 465,7 млн. грн.; на рахунки комунальних підприємств у квітні Національна служба здоров'я України спрямувала понад 4,4 млрд. грн., приватних - понад 17 млн. грн., ФОП - 44,5 тис. грн. [13].

Варто зауважити, що із загальної суми виплат за надання спеціалізованої медичної допомоги 1641 заклад України отримав понад 12,9 млрд. грн., за надання екстреної медичної допомоги 25 закладів країни отримали понад 1,5 мільярдів гривень [1]. Зважаючи на сучасні особливості функціонування системи охорони здоров'я в Україні та процеси її реформування та вдосконалення, варто розглянути оцінку рівня вторинної медицини в Україні за регіонами (у балах) (рис.1).

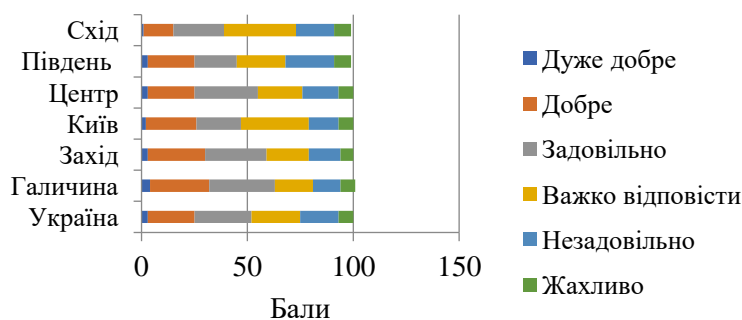


Рис.1. Оцінка рівня вторинної медицини в Україні за регіонами (у балах) [12]

З проведеного аналізу бачимо, що в основному оцінка рівня вторинної медицини по регіонах України є задовільною, але варто зважати на те, що присутня також і оцінка жахливо, яка в свою чергу зумовлює до прийняття виважених та екстрених рішень щодо вдосконалення системи охорони здоров'я, розпочавши насамперед з виявлення

причини надання такої оцінки. Це дає можливість зробити висновок про те, що варто удосконалити систему охорони здоров'я.

Варто проаналізувати оплату надавачам спеціалізованої медичної допомоги за програмою медичних гарантій у 2020 році (%) (рис.2).

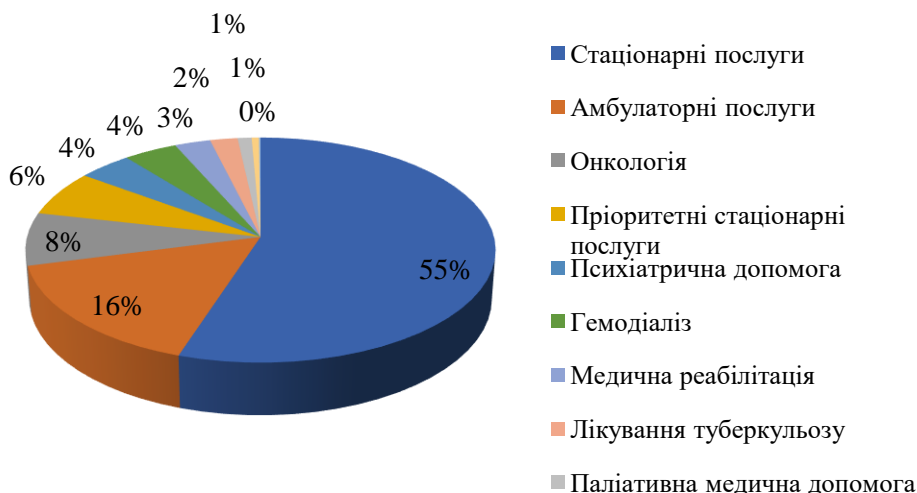


Рис. 2. Оплата надавачам спеціалізованої медичної допомоги за програмою медичних гарантій у 2020 році (%)

*Джерело: складено автором на підставі [11]

З рис. 2 бачимо, що найбільшу оплату отримали надавачі стаціонарних послуг 9705393955 грн., що становить 55% від загального обсягу оплати, а найменше отримали надавачі пріоритетних амбулаторних послуг 20458033 грн.. Важливо зауважити, що незначну оплату було надано особам, котрі здійснюють медичну допомогу особам з ВІЛ 99004454 грн. Це дає можливість зробити висновок про те, що дані процеси демонструють нестійку динаміку під час оплати праці надавачів медичних послуг, оскільки зважаючи на те, що Україна займає одне з перших місць серед країн європейського регіону за кількістю ВІЛ-позитивних осіб, оплата праці даній категорії займає найменший відсоток серед інших надавачів медичних послуг, що зумовлює бажання працювати у медичного персоналу за низьку оплату праці.

Варто зауважити, що наявна модель охорони здоров'я має значні недоліки. До основних з них належать:

- не задоволення потреб населення у наданні медичної допомоги, а орієнтація на вирішенні проблем галузі;
- деформованість надання медичних послуг, що спричинена неефективністю системи;
- порушення принципів солідарності та справедливості, зумовлених недостатністю фінансуванням.

Світовий досвід, щодо розвитку мережі спеціалізованих лікарень є звісно значимішим. У Швеції регіональна лікарняна мережа представлена: 9 регіональними лікарнями на 1000-1500 ліжок із зоною обслуговування близько 1 млн. жителів, 25 окружними лікарнями потужністю 600-800 ліжок на 250 тисяч. жителів, 77 районними лікарнями потужністю 200-300 ліжок на 75 тис. жителів. Всі невеликі лікарняні установи були

перетворені в лікарні-котеджі і сестринські будинки для соматично хворих [8].

Регіональна лікарняна мережа Фінляндії представлена установами інтенсивного обслуговування, яка при 5 млн. жителів в країні включає: 5 високоспеціалізованих ("університетських центральних лікарень") із середньою потужністю 1310 ліжок з зоною обслуговування близько 750 тисяч осіб; 16 центральних лікарень потужністю 460 ліжок із зоною обслуговування в середньому 236 тис. чоловік; 35 інших спеціалізованих лікарень із середньою потужністю 160 ліжок. Середня тривалість перебування на ліжку в лікарнях цього типу становить 8 днів [14].

Всі невеликі лікарні передані в сферу діяльності первинної лікарської допомоги: 204 центру здоров'я мають лікарняні установи із середньою потужністю 107 ліжок. У них розгорнуто 45 ліжок на 10 тис. населення. Ці ліжка використовуються для госпіталізації хронічних хворих, для долікування і надання медико-соціальної допомоги людям похилого віку та інвалідам.

Зважаючи на вищенаведене, то в Україні розпочинаючи з 1990 року було 3900 лікарняних закладів, де розміщувалось 700 тис. лікарняних ліжок. З роками ці показники лише зменшувались і на 2013 рік у державі залишилось 2200 закладів медицини, які налічували 398 тис. лікарняних ліжок. Після процесу окупації Криму, а також частини Луганської та Донецької областей в Україні залишилось 1800 лікарняних закладів із 336 тис. ліжками. На кінець 2017 року наявно 1700 медичних закладів, де розміщено 309 тис. ліжок. Кількість амбулаторно-поліклінічних закладів в Україні постійно зростало: з 6900 у 1990 році до 10400 у 2017 році [2].

До основних проблем функціонування та розвитку спеціалізованих лікарень в Україні варто віднести:

- відсутність наявної тактики та стратегії щодо досягнення цілей;
- знижені темпи реалізації;
- суперечність дій та непослідовність;
- неврахування чіткої політики, що має на меті забезпечення виконання прийнятих рішень;
- відсутність прозорої системи фінансування.

Крім цього, варто відмітити те, що на сьогодні відсутня інтеграція в діяльності служб охорони здоров'я і соціального забезпечення у використанні малопотужних стаціонарів для організації медико-соціальної допомоги населенню. В силу концентрації спеціалізованих видів допомоги і новітніх медичних технологій у великих установах (на вищих рівнях організації медичної допомоги) поглиблюється розрив в якісних показниках стаціонарної допомоги населенню, яке проживає у великих містах і жителям невеликих міських поселень і сільських місцевостей. При цьому нерационально використовуються дорогі лікарняні ліжка в спеціалізованих відділеннях в результаті відсутності організації системи долікування хворих і проведення відновного лікування в закладах (відділеннях) відповідного профілю.

Зважаючи на вищенаведені проблеми та особливості щодо реформування системи охорони здоров'я, а також враховуючи можливість розвитку та розгалуження мережі спеціалізованих лікарень варто враховувати сучасний стан системи охорони здоров'я та зробити наступні кроки, щодо усунення наявних проблем:

- підвищити ефективність системи охорони здоров'я;
- поліпшити якість наданих медичних послуг;
- запровадити соціальне медичне страхування;
- впроваджувати аспекти професійного менеджменту в роботу з кадрами;
- проводити моніторинг та здійснювати аналіз щодо ефективності медичної допомоги, а також її доступності.

Після введення з 1 квітня другого етапу медичної реформи, який стосується стаціонарів і вузьких фахівців, змінився механізм фінансування - лікарні отримали 60% звичної субвенції, а 40% мають прийти через Національну службу здоров'я України – орган, який виконує роль національного страховика. Цю частину коштів виділяють за принципом "гроші йдуть за пацієнтом" на конкретно надане лікування. Однак, за словами медиків і профспілок, тарифи НСЗУ є неадекватними і заниженими. Наприклад, на огляд лора виділено 49 грн, а на лікування зуба - 9 грн. [9].

У той же час спеціалізовані лікарні можуть зменшити витрати в порівнянні з лікарнями загального профілю. Наприклад, кардіохірургічна

клініка на 2000 ліжок, що виконує 2000 операцій за рік. І якщо хірургам виплачується зарплата не за одну операцію, а за певний період роботи, то це дозволяє скоротити лікарняні та страхові витрати, особливо при збільшенні кількості операцій (>2000). Таким чином, з'являється економія від оперативного масштабу, від налагодження «виробничого потоку» [15].

Фінансування з боку НСЗУ та автономізація не означають, що медзаклад не може отримувати кошти з бюджету. Вони можуть їх отримувати за певними програмами місцевого чи державного бюджету, але воно для них не буде вже основним та не буде розглядатися як утримання, це будуть кошти для покриття певних витрат. Місцеві ради також можуть звільняти медзаклади від сплати певних комунальних послуг.

Засобом доступу до безплатних медичних послуг вторинної ланки у реформованій медицині в першу чергу стає електронне направлення лікаря "первинки", тобто сімейного лікаря, терапевта, педіатра, з яким укладена декларація. Самозвернення (тобто без направлення) можливим залишиться у наступних випадках: звернення до акушера-гінеколога, педіатра, психіатра, нарколога; медична допомога при пологах, включаючи оперативне втручання; Увага: Безоплатна медична допомога надаватиметься не тільки за направленням лікуючого лікаря, але при доставленні бригадою екстреної (швидкої) медичної допомоги та в деяких випадках при самозверненні пацієнта.

Висновки і перспективи подальших розвідок. Отже, з проведеного вище аналізу варто відмітити те, що органи державної влади на разі розробили план заходів, який стане основою для подальшої державної підтримки визначених закладів охорони здоров'я. Сформована та налагоджена мережа закладів охорони здоров'я є необхідною умовою під час виконання завдання Міністерства охорони здоров'я України, яке зобов'язалось забезпечити доступність до якісної медичної допомоги виключно на засадах доказової медицини. У лікарняному секторі зберігається нерациональний розподіл лікарняних ліжок за рівнями ієрархії організації медичної допомоги (місцевий, районний, міжрайонний (зональний), обласний), в результаті чого незадовільно використовуються лікарняні ліжка в малопотужних лікарнях і перевантажені великі багатопрофільні лікарні та спеціалізовані центри. Незважаючи на наявні проблеми органи влади намагаються врегулювати питання нестійкої системи охорони здоров'я України та покращити якість наданих медичних послуг, але потрібно враховувати, що даний процес буде затягнутим в часі.

Список літератури

1. Офіційний сайт правий берег ДесниБлизько 448,7 мільйонів гривень отримали спеціалізовані лікарні Чернігівщини від НСЗУ. URL: <https://bereg.online/blyzko-448-7-miljoniv->

gryven-otrymaly-spetsializovani-likarni-
chernigivshhyny-vid-nszu (дата звернення
15.07.2020).

2. Боднар В. Кількість лікарняних закладів за роки незалежності України зменшилась більш ніж удвічі. URL: <http://khpg.org/index.php?id=1546966350> (дата звернення 12.07.2020).

3. В Україні автономізовано 70% спеціалізованих закладів охорони здоров'я. URL: <https://www.kmu.gov.ua/news/v-ukrayini-avtonomizovano-70-specializovanih-zakladiv-ohoroni-zdorovya> (дата звернення 18.07.2020).

4. В Україні з липня змінять систему фінансування лікарень. URL: https://zaxid.net/v_ukrayini_z_lipnya_zmyniat_sistem_u_finansuvannya_likaren_n1503614 (дата звернення 16.07.2020).

5. Дайджест змін в охороні здоров'я. URL: <https://kmpb1.com.ua/2019/09/%D0%B4%D0%B0%D0%B9%D0%B4%D0%B6%D0%B5%D1%81%D1%82-%D0%B7%D0%BC%D1%96%D0%BD-%D0%B2-%D0%BE%D1%85%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD%D1%96-%D0%B7%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B2%D1%8F/> (дата звернення 12.07.2020).

6. Доступ до медичної допомоги у рамках створення спроможної мережі надання соціальних послуг. URL: <https://moz.gov.ua/article/news/dostup-do-medichnoi-dopomogi-u-ramkah-stvorennja-spromozhnoi-merezhi-nadannja-socialnih-poslug> (дата звернення 14.07.2020).

7. Закон України “Про затвердження переліку закладів охорони здоров'я, переліку лікарських посад і переліку посад фармацевтичних працівників” від 22.06.1995 р. № z0399-95 URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0399-95#Text> (дата звернення 15.07.2020).

8. Матвеев Э.Н., Леонов С.А., Сон И.М. Предпосылки и пути комплексной реструктуризации сети учреждений здравоохранения на региональном уровне, *Социальные аспекты здоровья населения*, № 1(5), 2008. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-podhody-k-planirovaniyu-statsionarnoy-meditsinskoj-promoschi-gorodskomu-naseleniyu-1/viewer> (дата звернення 15.07.2020).

9. Медреформа поставила на межу виживання ряд спеціалізованих лікарень - МОЗ. URL: <https://socportal.info/ua/news/medreforma-postavila-na-mezhu-vizhivannya-ryad-spetsializovanih-likaren-moz/> (дата звернення 12.07.2020).

10. Наказ Міністерства охорони здоров'я України “Про затвердження Об'єму надання вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги, що повинен забезпечуватися багатопрофільними лікарнями інтенсивного лікування першого та другого рівня, та Змін до Порядку регіоналізації перинатальної допомоги” від 19.10.2018р. №1881.

URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1292-18#n16> (дата звернення 15.07.2020).

11. Оплата надавачам медичної допомоги за програмою медичних гарантій. URL: <https://nszu.gov.ua/e-data/dashboard/pmg-pay> (дата звернення 18.07.2020).

12. Оцінка медичної сфери в Україні. URL: <https://www.slideshare.net/Ratinggroup/2129-2019> (дата звернення 19.07.2020).

13. У квітні спеціалізовані медзаклади отримали 4,5 мільярда - НСЗУ. URL: <https://www.ukrinform.ua/rubric-society/3015627-ukvitni-specializovani-medzakladi-otrimali-45-milarda-nszu.html> (дата звернення 16.07.2020).

14. Услуги здравоохранения в Финляндии. URL: <https://www.infofinland.fi/ru/living-in-finland/health/health-services-in-finland>. (дата звернення 12.07.2020).

15. Ходош Е.М. Больница и больничная койка: аспекты развития. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/37955> (дата звернення 12.07.2020).

References

1. About 448.7 million hryvnias were received by specialized hospitals of Chernihiv region from the National Health Insurance Fund, available at: <https://bereg.online/blyzko-448-7-miljoniv-gryven-otrymaly-spetsializovani-likarni-chernigivshhyny-vid-nszu> (Accessed 14 July 2020).

2. Bodnar, V. (2020), “The number of hospitals has more than halved since Ukraine’s independence”, available at: <http://khpg.org/index.php?id=1546966350> (Accessed 14 July 2020).

3. Ukraine, 70% of specialized health care facilities are autonomous, available at: <https://www.kmu.gov.ua/news/v-ukrayini-avtonomizovano-70-specializovanih-zakladiv-ohoroni-zdorovya> (Accessed 14 July 2020).

4. Ukraine will change the system of financing hospitals from July, available at: https://zaxid.net/v_ukrayini_z_lipnya_zmyniat_sistem_u_finansuvannya_likaren_n1503614 (Accessed 13 July 2020).

5. Digest changes in healthcare, available at: <https://kmpb1.com.ua/2019/09/%D0%B4%D0%B0%D0%B9%D0%B4%D0%B6%D0%B5%D1%81%D1%82-%D0%B7%D0%BC%D1%96%D0%BD-%D0%B2-%D0%BE%D1%85%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD%D1%96-%D0%B7%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B2%D1%8F/> (Accessed 12 July 2020).

6. Access to health care in the framework of creating a capable network of social services, available at: <https://moz.gov.ua/article/news/dostup-do-medichnoi-dopomogi-u-ramkah-stvorennja-spromozhnoi-merezhi-nadannja-socialnih-poslug> (Accessed 15 July 2020).

7. The Verkhovna Rada of Ukraine (1995), The Law of Ukraine “About the statement of the list of health care institutions, the list of medical positions and

the list of positions of pharmaceutical workers”, available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0399-95#Text> (Accessed 15 July 2020).

8. Matveev, E.N., Leonov, S.A. and Dream I.M. (2008), “Prerequisites and ways of comprehensive restructuring of a network of healthcare institutions at the regional level”, *Social'nie aspekti zdorov'ja naselenija*, [Online], vol.1, available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-podhody-k-planirovaniyu-statsionarnoy-meditsinskoy-pomoschi-gorodskomu-naseleniyu-1/viewer> (Accessed 14 July 2020).

9. Payment to medical care providers under the medical guarantee program, available at: <https://nszu.gov.ua/e-data/dashboard/pmg-pay> (Accessed 14 July 2020).

10. The Verkhovna Rada of Ukraine (2018), Order of the Ministry of Health of Ukraine “About the statement of Scope of rendering of secondary (specialized) medical care which should be provided by multidisciplinary hospitals of intensive care of the first and second level, and Changes to the Order of regionalization of perinatal care”, available at:

<https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1292-18#n16> (Accessed 15 July 2020).

11. Medical reform has put on the brink of survival a number of specialized hospitals - the Ministry of Health, available at: <https://socportal.info/ua/news/medreforma-postavilana-mezhu-vizhivannya-ryad-spetcializovanikh-likaren-moz/> (Accessed 12 July 2020).

12. Assessment of the medical sphere in Ukraine (May 21-29, 2019), available at: <https://www.slideshare.net/Ratinggroup/2129-2019> (Accessed 12 July 2020).

13. In April, specialized medical institutions received 4.5 billion, available at: <https://www.ukrinform.ua/rubric-society/3015627-ukvitni-specializovani-medzakladi-otrimali-45-milardanszu.html> (Accessed 15 July 2020).

14. Health Services in Finland”, available at: <https://www.infofinland.fi/ru/living-in-finland/health/health-services-in-finland> (Accessed 14 July 2020).

15. Hodosh, E.M. (2020), “Hospital and hospital bed: aspects of development”, available at: <http://www.mif-ua.com/archive/article/37955> (Accessed 12 July 2020).

УДК 617.58-77
ГРНТИ 76.29.41

Fischenko Volodymyr Oleksandrovych

Dr. Med. Sciences, Professor,

*Head of the Department of Traumatology and Orthopedics
National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya*

ORCID: 0000-0001-9811-7861

Branitskyi Oleksandr Yuriiovych

*graduate student of the Department of Traumatology and Orthopedics
National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya*

ORCID: 0000-0003-0507-3092

Botsul Oleksandr Viktirovych

*National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya
graduate student of the Department of Traumatology and Orthopedics*

ORCID: 0000-0003-0177-2064

Karpinska Olena Dmitrivna

*researcher at the Laboratory of Biomechanics
State Institute «Sytenko Institute of Spine and*

Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

ORCID: 0000-0002-1482-7733

Karpinsky Mykhailo Yuriiovych

*researcher at the Laboratory of Biomechanics
State Institute «Sytenko Institute of Spine and*

Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

ORCID: 0000-0002-3004-2610

COMPLEX TECHNOLOGY OF RESTORATION OF WALKING SYMMETRICITY AFTER HIP ARTHROPLASTY

Фіщенко Володимир Олександрович

*доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри травматології та ортопедії
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова*

Браницький Олександр Юрійович

*аспірант кафедри травматології та ортопедії
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова*

Боцул Олександр Вікторович

асистент кафедри травматології та ортопедії

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Карпінська Олена Дмитрівна

науковий співробітник лабораторії біомеханіки

ДУ "Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І.Ситенка НАМН України"

Карпінський Михайло Юрійович

науковий співробітник лабораторії біомеханіки

ДУ "Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І.Ситенка НАМН України"

КОМПЛЕКСНА ТЕХНОЛОГІЯ ВІДНОВЛЕННЯ СИМЕТРИЧНОСТІ ХОДЬБИ ПІСЛЯ ЕНДОПРОТЕЗУВАННЯ КУЛЬШОВОГО СУГЛОБУ

Summary. The prolonged course of the degenerative process is accompanied not only by pain, but also by a change in the congenital program of standing and walking, a decrease in the strength of the muscles of the lower extremities, and lameness. A delayed endoprosthesis operation leads to the formation of a persistent pathological pattern, which, unfortunately, remains after treatment for a long time, and in some patients - forever. The authors have developed original complexes of physical exercises to restore a disturbed gait as a result of the formed pathological pattern both in the early postoperative period and in the more distant period, when the full load on the operated limb is allowed. The effectiveness of rehabilitation measures was assessed, it was found that in patients who underwent a course to restore the symmetry of walking, the parameters of walking significantly ($p < 0.05$) improved in comparison with patients who refused it.

Аннотация. Длительное протекание дегенеративного процесса сопровождается не только болевым синдромом, но и изменением врожденной программы стояния и ходьбы, уменьшению силы мышц нижних конечностей, хромоте. Отложенная во времени операция эндопротезирования приводит к формированию стойкого патологического паттерна, который, к сожалению, остается и после лечения в течении длительного времени, а у некоторых больных – навсегда. Авторами разработаны оригинальные комплексы физических упражнений для восстановления нарушенной походки в следствие сформированного патологического паттерна как в раннем послеоперационном периоде, так и в более отдаленном, когда разрешена полная нагрузка на оперированную конечность. Оценена эффективность реабилитационных мероприятий, выявлено, что у больных, прошедших курс на восстановление симметричности ходьбы значимо ($p < 0,05$) улучшились параметры ходьбы по сравнению с больными, которые отказались от него.

Key words: hip joint, arthroplasty, pattern, physical rehabilitation, walking

Ключевые слова: тазобедренный сустав, эндопротезирование, паттерн, физическая реабилитация, ходьба

Важкий коксартроз клінічно супроводжується сильним больовим синдромом, це вимушує людину щадити хвору кінцівку, скорочувати час опори на неї. З часом така ситуація призводить до патологічної ходьби. При відсутності адекватної медичної допомоги в передопераційному періоді у хворого розвиваються контрактури (м'язові спазми), що веде до рефлекторного перекосу таза, викривленню хребта і збільшенню асиметричності ходьби. У хворих спотворюються біомеханічні параметри кульшового суглобу, це проявляється в порушенні параметрів ходьби, часто вимагає хворого використовувати додаткову опору – трости, милиці. Кульгавість стає не просто поганою звичкою, а пристосувальною реакцією організму. Чим триваліше процес формування пристосувального візерунку тіла хворого, тим складніше й триваліше процес його відновлення, і якщо у пацієнтів похилого віку відновлення здатності пересування без болю є вже непоганим результатом, то для людей середнього, і тим більше молодого віку, порушення ходьби призводить до формування психологічних травм. Сформовані до операції патологічні рухові стереотипи, визначають особливості ходьби та роботи м'язів протягом тривалого часу після операції [2]. Тому, проведення

адекватної післяопераційної реабілітації потребують всі хворі з довгостроковим патологічним процесом в області кульшового суглоба. Це пояснює той факт, що продуктивність м'язів і хода пацієнтів після заміни залишаються порушеними протягом 12-18 місяців [4, 5, 6].

Рухові порушення, що визначають стратегії пересування пацієнта після операції, пояснюються, по-перше, змінами в функції м'язів – стабілізаторів, по-друге, змінами інерційних характеристик кінцівки, по-третє, стійкими стереотипами або стратегіями рухів (патологічними руховими патернами) сформованими під час тривалого патологічного процесу.

Формування патологічних рухових стереотипів, що визначають стратегії пересування пацієнта, відбувається для компенсації недостатньої стійкості, виконання тривалої рухової активності та забезпечення енергетичної недостатності патологічної ходьби.

Клінічно це проявляється в уповільненні швидкості та ритмічності пересування; скороченні довжини кроку оперованою кінцівкою та "пристосуванні" рухів здоровою кінцівкою до рухів хворої кінцівки; еквівалентному посиленні роботи м'язів неоперованої кінцівки.

На руйнування цих проявів та виробітку нових стратегій руху пацієнта повинні бути спрямовані зусилля лікаря-реабілітолога.

Мета роботи – вивчити ефективність реабілітаційних заходів у хворих після ендопротезування кульшового суглобу.

Матеріали та методи. Всім хворим після операції ендопротезування проводили курс ранньої реабілітації за пропонованою нами методикою, яка включала дихальні вправи, а після дозволу на дозоване навантаження оперованої кінцівки – вправи на відновлення рухів. Через 6 місяців на контрольному огляді хворим пропонували пройти курс реабілітації. погодилися пройти курс 10 хворих, інші за об'єктивними обставинами відмовилися. Для оцінки ефективності реабілітаційних заходів для порівняння було відібрано по 10 хворих, які пройшли реабілітацію й 10 хворих, які відмовилися від неї. Хворих відбирали за схожими ознаками – вік від 45 до 65 років, без зайвої ваги, післяопераційних стан неускладнений, параметри ходьби не мають значних порушень через різницю довжини нижніх кінцівок, тощо. Оцінку ходьби оцінювали за показником FAP на системі GateRite [3, 7].

Реабілітаційні заходи на ранньому післяопераційному періоді. Післяопераційна реабілітація повинна починатися в найближчому періоді після операції (12-48 годин), бути комплексною, але, разом з цим, мати індивідуальний характер. Ранній післяопераційний період реабілітації (1-2 тижня після операції) орієнтований на профілактику ускладнень з боку серцево-судинної та дихальної систем, а також, на забезпечення умов для загоєння післяопераційної рани та руйнування, сформованих в процесі тривалого існування до операції захворювання, патологічних рухових патернів, які обумовлюють стратегії пересування пацієнта.

Важливим фактором профілактики ускладнень з боку серцево-судинної та дихальної систем є дихальна гімнастика. Цим дихальним вправам та різним типам дихання хворих слід навчити ще до операції. В післяопераційному періоді ці вправи також активно використовуються.

Дихальна гімнастика.

1. Стимуляція черевного дихання.

В.П. – лежачі або стоячи (ноги на ширині плеч). Вдих носом, максимально опустив вниз діафрагму і надуваючи живіт. Видих носом, максимально втягнувши живіт та підтягуючи вверх діафрагму. Кількість повторів 8-10 разів.

2. Стимуляція грудного дихання.

В.П. – теж саме. Вдих носом, плечі максимально піднімаються вверх, грудна клітина розправляється, здійснюючи повний вдих. Видих, плечі опускаються, грудна клітина спадає, живіт втягнутий. Кількість повторів 8-10 разів.

Паралельно з дихальною гімнастикою пацієнти виконують активні рухи в суглобах неоперованої кінцівки. А також ізометричну гімнастику для м'язів оперованої кінцівки

(сідничних, чотирьохголового, двохголового м'яза стегна, м'язів гомілки).

З першого дня з участю методиста ЛФК одночасно з дихальною гімнастикою проводили пасивні рухи для суглобів оперованої кінцівки та активні – для неоперованої. З першого дня починали пасивну гімнастику для оперованого кульшового суглоба на функціональній шині з поступовим збільшенням кута згинання. На другу добу пацієнтам дозволяли сидіти в ліжку із згинанням в кульшовому суглобі до прямого кута, та займатися лікувальною гімнастикою.

Крім того пацієнти виконували вправи з контролю поперекового лордозу:

В.П. – лежачі на спині. Ноги зігнути в колінах, руки вздовж тулубу. На вдиху грудна клітина максимально розправляється, поперековий відділ хребта вигинається, збільшуючи поперековий лордоз. На видиху грудна клітина спадає, живіт втягується, м'язи поперекового відділу хребта розслаблюються, повертаючись у В.П. Кількість повторів 8-10 разів.

Стимуляцію м'язів, які відводять та приводять стегно, здійснюємо за допомогою вправи "Хула-хула":

В.П. – ноги прями, стопа в положенні згинання, виконуємо одночасне витягнення дорзально (як би подовжуючи її) оперованої кінцівки, та підтягування краніально (як би скорочуючи її) неоперованої кінцівки. Повернення в В.П. Потім змінюємо напрям рухів. Кількість повторів 4-10 вправ 5-6 рази на день.

Після того, як пацієнту дозволяють перевертатися на живіт через здорову ногу, ці вправи виконують 3-10 рази на день. При цьому між ногами хворого слід розташовувати ортопедичну подушку.

В положенні "лежачі на животі" рекомендуємо хворому виконувати 10-15 активних згинально-розгинальних рухів в колінних суглобах – 5-6 рази на день, а також, 5-10 активних розгинальних рухів в кульшовому суглобі оперованої кінцівки по 3-5 рази на день.

Після вертикалізації пацієнтів вправи по контролю поперекового лордозу виконуються в положенні стоячі. Вправи виконуються при двобічній опорі на ходунки або високі милиці.

В.П. – стоячі, ноги на ширині плеч, руки вздовж тулубу. На вдиху грудна клітина максимально розправляється, поперековий відділ хребта вигинається, збільшуючи лордоз. На видиху живіт втягується, м'язи поперекового відділу хребта розслаблюються, повертаючись в В.П. Кількість повторень 8-10 разів.

При навчанні пацієнта правильним прийомом пересування нами відмічене декілька типових стійких порушень ходьби або патологічних рухових патернів. Так, практично у всіх пацієнтів після операції відмічається порушення симетричності ходи, що проявляється різною довжиною кроку оперованої та неоперованої ногами. Винос оперованої ноги вперед, як правило, більш довгий,

тоді як неоперованою ногою пацієнт виконує коротший крок. Це пояснюється обмеженням розгинання в оперованому кульшовому суглобі.

Ще одним типовим патологічним руховим стереотипом є нахил тулубу пацієнта вперед при опорі на оперовану кінцівку. При цьому тулуб хворого знаходиться попереду милиць, що погіршує асиметрію ходи і ускладнює формування правильного стереотипу рухів.

В ранньому відновлювальному періоді, який триває з другого по шостий тиждень з моменту операції активно використовуємо вправи, які сприяють руйнуванню сформованих патологічних рухових патернів, що визначають стратегії пересування пацієнта. З цією метою використовуємо методику стимуляції симетричних рухів та положень сегментів тіла.

Для цього на рівні нижнього краю реберних дуг (під груддю), на крилах тазу та в області надплічч симетрично закріплюємо контрастні маркери. В якості маркерів зручно використовувати стрічки, які фіксують в зазначених місцях так, щоб вони були паралельні одна одній та розташовувались горизонтально.

В.П. – стоячи перед дзеркалом в зручній стойці, ногою вмісті, руки вздовж тулубу. При цьому стрічки розташовані паралельно одно одній.

Перенести вагу тіла на неоперовану кінцівку, оперовану кінцівку максимально (але не більш ніж на 90°) зігнути в колінному та кульшовому суглобах, контролюючи горизонтальне положення маркерів та утримуючі це положення 2-3 с, уникаючи внутрішньої ротації та приведення. Вправу можна виконувати з опорою на ходунки або високі милиці.

Прийняти В.П. Потім перенести вагу тіла на оперовану кінцівку. Протилежну кінцівку зігнути в колінному та кульшовому суглобах до того ж самого кута, контролюючи горизонтальне положення маркерів та утримуючі це положення 2-3 с. Повторити цикл. Кількість повторів 40-50 циклів.

Переміщенням ваги тіла з однієї ноги на іншу проводиться укріплення м'язів, що відводять, та розтягнення м'язів, що приводять стегно в положенні стоячи, ноги на ширині плеч з двобічною опорою на ходунки або високі милиці.

Під час виконання операції ендопротезування хірурги видаляють головку стегна, капсулу суглоба і зв'язки, чим порушують роботу пропріорецепторного апарату кульшового суглоба, тому для оцінки якості роботи пропріорецепторного апарату кульшового суглоба ми використовуємо розроблену нами методику оцінки та тренування м'язово-суглобового почуття.

Якість роботи пропріорецепторного апарату кульшового суглобу перевіряємо таким чином. Пацієнт лежить на кушетці, на спині з закритими очима. Лікар надає кінцівці пацієнта пасивне згинання в кульшовому суглобі на 10-15 с, просить пацієнта запам'ятати це положення, і випрямляє ногу пацієнта. Після чого пацієнта просять активно

повторити це положення кінцівки и, по різниці величини кута згинання в кульшовому суглобі оцінюють порушення м'язово-суглобового почуття (кінестезії). Фіксуємо положення кінцівки, фотографуючи її через прозорий екран з нанесеною на нього координатною сіткою. Положення кінцівки та кут згинання в кульшовому суглобі оцінюємо, орієнтуючись на попередньо нанесений на стегно пацієнта маркер (лінію осі сегмента). Пацієнт виконує 3-4 спроби. Після чого оцінюють середню похибку виконання вправи, і по неї судять про якість роботи пропріорецепторного апарату.

Для тренування м'язово-суглобового почуття рекомендуємо пацієнту виконувати дану вправу 5-6 рази протягом дня.

Розробка реабілітаційних заходів у віддаленому періоді після ендопротезування. У хворих після ендопротезування кульшового суглобу, у яких до операції було сформовано хибний патерн пересування, помітні порушення ходьби зберігаються тривалий час (до року і більше), навіть після повного відновлення опірності на оперовану кінцівку.

Одним із важливих показників функціонального стану ОРС є симетричність ходи людини. Таки характеристики, як величина кроку, час опори на підшовну поверхню кінцівок, швидкість руху, кут постанови стопи на опорну поверхню, кути згинання суглобів та ін. у здорових людей є приблизно однаковими для кожної кінцівки. Тривалий перебіг захворювання ОРС призводить до радикальних змін параметрів ходи, які є пристосувальною реакцією на біль, обмеження рухів в суглобах та ін.

Нами розроблено спосіб відновлення симетричності ходи людини [1], який дозволяє відновлювати ходу пацієнтів після ендопротезування, коли пацієнту дозволяють повністю навантажувати кінцівку. Основна задача полягає у зруйнуванні патологічних стереотипів рухів, що склалися до операції.

Перед початком реабілітації записують подокінезіограму і по неї встановлюють початкові параметри років. Після кожного етапу тренування проводять коригування параметрів ходьби для подальшого планування реабілітаційних заходів.

Орієнтуючись на дані подокінезіограми, скорочують довжину кроку та швидкість ходьби пацієнта до моменту, поки візуально хода не стане симетричною. Після цього повільно збільшують довжину кроку оперованої кінцівки. Цей процес ходьби з низькою швидкістю, але довжина кроку оперованою кінцівкою поступово збільшується, продовжується до того, поки хода пацієнта не буде виглядати симетричною при звичайній довжині кроку. Після цього етапу виконують повторну запис подокінезіограми та порівнюють її показники з доопераційними та за необхідністю корегують ходу хворого, внесенням змін в опорні фази кроку.

Другий етап тренування полягає у збільшенні швидкості руху. До цього тренувального етапу слід переходити тоді, коли вдалося досягти симетричної

ходи при звичайній довжині кроку та низької швидкості ходьби. Пацієнт при звичайній довжині кроку поступово збільшує швидкість ходьби до того, поки хода не стане візуально симетричною.

В якості тренування симетричності піднімання стопи при ходьбі рекомендуємо ставити на маркери невисокі перешкоди, поступово збільшуючи їх висоту, щоб пацієнт перекрокував через перешкоди оперованою та здоровою кінцівками, симетрично піднімаючи ноги над поверхнею.

Ці вправи ми використовуємо додатково до звичайних комплексів відновлювальної фізкультури для скорішого руйнування патологічних стереотипів рухів, що склалися під час перебігу хвороби.

Технологія післяопераційної реабілітації пацієнтів після тотального ендопротезування

кульшового суглоба будується на використанні базової реабілітації, що містить лікувальну гімнастику, пасивну механотерапію, електростимуляцію, а також обов'язкову оцінку стереотипу ходьби методом клінічної подометрії.

Результати дослідження. Для визначення ефективності заходів на відновлення симетричності ходьби, через 6 місяців після операції ендопротезування на контрольному огляді хворі були обстежені за допомогою системи GaitRite. Були виявлені порушення ходьби, які супроводжувалися наявністю кульгавості, несиметричності кроків як за часовими, так і за геометричними параметрами. Хворим було запропоновано пройти реабілітаційні заходи за розробленою нами методикою. Оцінку ходьби оцінювали за показником FAP (табл. 1).

Таблиця 1

Результати відновлення функціонального стану нижніх кінцівок у хворих після ендопротезування кульшового суглобу

Групи спостереження	До реабілітації (6 міс. після ендопротезування)	Після реабілітації (9 міс. після ендопротезування)	Ст.значущість між термінами спостереження
Група реабілітації	80.7±1.6	84.1±2.3	t=-6.278 p=0.001
Група без реабілітації	80.9±1.6	81.7±1.4	t=-4.000 p=0.003
Ст.значущість між групами	t=-0.283 p=0.781	t=-2.824 p=0.011	

Середній бал FAP у хворих через 6 місяців після ендопротезування був однаковий (p=0,781) і становив в середньому 80,7 балів, що оцінюється як гарний. На 9 місяць після операції у всіх хворих функціональний стан покращився в групі реабілітації до (84,1±2,3) бали (p=0,001), в групі без реабілітації – до (81,7±1,4) бали, теж статистично значущо (p=0,003). Але на 9 місяць спостереження бал FAP у хворих, які пройшли реабілітацію був статистично значущо (p=0,011) кращім, ніж у хворих, які відмовилися від неї.

На 6 міс. спостереження після операції деякі хворі користувалися паличкою – 3 хворих в групі реабілітації та 4 в групі без реабілітації. За словами хворих паличка їм потрібна не стільки через нездатність ходити, скільки як засіб страхування на випадок будь чого. Після проходження реабілітації тільки один хворий в групі реабілітації користувався паличкою при тривалих прогулянках, в групі без реабілітації продовжували користуватися паличкою 3 хворих (один через захворювання протилежної кінцівки).

Таким чином, можна стверджувати, що адекватні реабілітаційні заходи здатні переважати хибні звички неправильної ходьби, що набули хворі упродовж тривалої хвороби. Звісно, що одноразовий курс реабілітації це тільки перший повштух до повного одужання, але він доводить, що адекватна реабілітація та бажання хворого здатні це зробити.

Висновки. Результати біомеханічних досліджень ходьби на системі GaitRite показали, що

після реабілітаційних заходів у хворих статистично значуще (p<0,05) покращилися параметр ходьби у порівнянні з групою хворих, які відмовилися від реабілітаційних заходів. Відмічали суттєве покращення функціонального показника FAP, а у деяких хворих його відновлення до норми (до 90 балів), в середньому показних FAP у хворих після реабілітації становив (84,1±2,3) балів, а у хворих без реабілітації (81,7±1,4) балів.

Список літератури:

1. Патент 126691 UA. А61В5/103, А61В5/11, А61Н1/00. Спосіб відновлення симетричності ходи людини / Тяжелов ОА, Фіщенко ОВ, Карпінський МЮ, Карпінська ОД, Браніцький ОЮ. Патенто власник ДУ «ІПХС ім. М.І. Ситенка НАМНУ» – Заявка u201802003 від 26.02.2018. – Опубл. 25.06.2018. – Бюл. № 12. [Pat. UA126691U. А61В5/103, А61В5/11, А61Н1/00. Method of restoring symmetry of human way / Tiazhelov OA, Fischenko OV; Karpinskyi MY, Karpinska OD. Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology NAMS of Ukraine. – Prior. u201802003, 26.02.2018. Pub. 25.06.2018].
2. Тяжелов ОА, Карпінський МЮ, Карпінська ОД, Браніцький ОЮ, Обейдат Халед. Патологічні постуральні патерни за умов тривалого перебігу остеоартрозу суглобів нижніх кінцівок // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2020. - №1. 26-32. [Tyazhelov O, Karpinsky M, Karpinska O, Branitsky O, Obeidat Kh, Pathological postural patterns at condition of long-term joint osteoarthritis of the lower extremity. Orthopaedics,

Traumatology and Prosthetics. 2020; 1: 26-32. DOI: 10.15674/0030-59872020126-32.

3. Gouelle A. Use of Functional Ambulation Performance Score as measurement of gait ability: Review. *Journal of Rehabilitation Research & Development (JRRD)*. 2014; 51 (5): 665 - 74. DOI: 10.1682/JRRD.2013.09.0198

4. Lugade V, Klausmeier V, Jewett B, Collis D, Chou L-S. Short-term recovery of balance control after total hip arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2008; 466(12): P.3051–3058. DOI: 10.1007/s11999-008-0488-9

5. Majewski M, Bischoff-Ferrari HA, Grüneberg C, Dick W, Allum JHJ. Improvements in balance after total hip replacement. *The Journal of Bone & Joint Surgery—British Volume*. 2005; 87(10): 1337–1343. doi: 10.1302/0301-620x.87b10.16605.

6. Nallegowda M., Singh U., Bhan S., Wadhwa S., Handa G., Dwivedi S. N. Balance and gait in total hip replacement: a pilot study. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. 2003; 82(9): 669–677. DOI: 10.1097/01.PHM.0000083664.30871.C8

7. Whittle M. *Gait analysis: an introduction: (Fourth edition)*. – Butterworth: Heinemann, 2007: 229 s

Shulyak Alexander

*Doctor of medical science, professor
State Institution “Institute of Urology
of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine”*

Gusakovsky Stepan

*Graduate student
State Institution “Institute of Urology
of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine”*

INTRAVESICAL CHEMOTHERAPY FOR NON-MUSCLE INVASIVE BLADDER CANCER

Summary. This review presents modern views on diagnostics, the role of repeated surgical interventions for non-muscle invasive bladder cancer. The results of treatment of patients with NMIBC who received intravesical chemotherapy and who were not instilled are also presented.

Key words : bladder cancer, transurethral resection, recurrence, chemotherapy.

Introduction

In the structure of cancer, bladder cancer ranks 7th among men and 11th overall [2]. The worldwide incidence of the disease is 9.0 per 100,000 population among men and 2.2 per 100,000 among women [2]. Indicators vary widely between countries, due to differences in risk factors, detection, diagnosis and treatment features. The variation is somewhat related to the different methodology and quality of data collection [3].

In Ukraine, as of 2018, it registers, with an average of 11.4 cases of MSM incidence and 4.4 cases of deaths per 100,000 population. Men in Ukraine get sick about 4 times more often than women. In 2018, according to the National Cancer Registry, 3895 cases were first diagnosed [4]. Mortality from this pathology continues to remain at a fairly high level - 4.4 per 100 thousand population [4]. It is known that according to statistics, up to 20.8% of patients die within the first year after the disease is detected [4].

About 75% of patients at diagnosis have stage T, T1 in people younger than 40, this figure is even greater [5]. High ability to relapse and progression characterize PCM as an aggressive disease. Relapses usually occur in 50%, most often in the first 2 years after surgery. Metastases are usually found in the pelvis 15-20%, in regional lymph nodes 10-15%, urethra 6-11%, in the upper urinary tract up to 5% [1,5,6, 7, 8].

Currently, the etiology of PCM has been studied in great detail. Among the main reasons that lead to the

development of this pathology, in the first place highlight the influence of occupational factors (prolonged contact with petroleum products), smoking, nutrition and drinking, genetic determination, the presence of chronic inflammatory diseases of the genitourinary system and infections that lead to infections [1,5].

The modern standard for the diagnosis of bladder tumors in most cases is cystoscopy with biopsy and subsequent histological examination of the drug. The stratification of the risk of recurrence and progression of the disease is based on the clinical and histological characteristics of the tumor, and therefore, in the pathomorphological examination of surgical and biopsy material of urothelial bladder cancer, it is necessary to take into account, first of all, the forms of tumor growth (the presence of papillary structures, the presence of papillary structures,), the degree of differentiation of tumor cells (G1-G3). In the presence of an invasion, it is imperative to determine its depth, which is necessary to evaluate the stage of the tumor process by the TNM system [9]. Due to the unpredictability of the disease, it is necessary to look for factors that will allow you to predict the onset of the disease and to choose the optimal treatment regimen.

Conditional forecast factors can be divided into several groups:

Histological Tumor Variety. In 1998, the World Health Organization (WHO) and the International Society of Urological Pathology presented and

published in 2004 the classification of non-invasive urothelial tumors (WHO / ISUP classification 1998). [10,11]. The classification consists in the detailed determination of the various degrees of anaplasia on the basis of selected cytological and histological criteria.

The classification divides flat urothelium formation into: urothelial hyperplasia, reactive urothelial atypia, atypia of unknown malignant genesis, dysplasia and CIS [12,13].

Among the non-invasive urothelial neoplasms, the 2004 WHO classification distinguishes PUNLMP, a low- and high-grade urothelial cancer. PUNLMP is defined as an entity that has no cytologic signs of malignancy, but normal urothelial cells combine into papillary structures. These entities have a low risk of progression, are non-malignant, and tend to relapse (G2).

The degree of differentiation. Surface tumors are usually differentiated by the degree of anaplasia (G) [14,15]. Transient cell carcinoma is highly differentiated, characterized by a good cure rate of up to 80%. Recurrences of such cancer are due to molecular genetic disorders [16,17,18,19]. due to the prevalence of the tumor. [20,21].

The nature of tumor growth. The leading role in the pathohistological genesis of transitional cellular PCM belongs to the cambial elements of the transitional epithelium, which are malignant and capable of uncontrolled division. The risk of progression with the development of invasion is low, but with T1G3 tumor increases to 50%, which increases the progression [22,23].

Multifocal impression. During TURB, small tumors of the bladder are often invisible or missed. The incidence of recurrence in papillary cancer in these cases is 65-85%, progression to 20% [24, 25, 23]. Upon examination 1 to 1.5 months after the primary TOUR, 40-65% detect residual tumors. This explains to us that PCM is a disease of the entire mucous membrane. [21,5,26].

Prevalence of the tumor. Superficial cancer progresses to invasive form in 1 year only by 10-20% [27,20]. For low-risk tumors the probability of recurrence in the first year after treatment is 15%, after 5 years 30%. The probability of progression of tumors is less than 1%. recurrence and it occurs, as a rule, the tumor has the same stage and stage as the first formation and has little effect on the prognosis and quality of life of the patient [28, 29]. High risk of recurrence is noted in multiple and large tumors, as well as formations that relapse despite treatment. Such tumors require aggressive treatment and dynamic monitoring.

Treatment of NMIBC

The gold standard in the treatment of MNRSM is TURB. The resection plan depends on the size of the formation. Small tumors (less than 1 cm) can be removed with one block, where the removed area includes the entire tumor and part of the bladder wall. Large tumors should be removed with fragments that will include the exophytic part of the formation, a proper bladder wall with the muscular layer, and the

borders of the removable area. coagulation in the process of resection [30].

Following the TURB formation of TA-T1 formulations, there is a high risk of residual tumor. There is also a risk of insufficient staging of the tumor during primary resection. survival [1,32,33]. There is no common decision on the performance of the second TOUR. It is recommended to perform the second operation 2-6 weeks after the first TURB [30, 31].

Intravesical chemotherapy

The use of therapeutic techniques that will reduce the rate of progression and recurrence, has been the basis of scientific research on muscular-non-invasive bladder cancer since the 1950s. Thus, the main indication for intramuscular chemotherapy was its use in adjuvant mode [1]. Chemotherapy was due to the following factors:

- A high concentration of drug substance is created locally.
- The systemic effect of the drug is limited due to the low absorption of the bladder wall
- Intra-bladder chemotherapy allows you to act on subclinical lesions.
- Due to the difference in the biological properties of the tumor, the effect of the chemotherapy agent is higher on the tumor tissue than on the unchanged, healthy mucous membrane.
- Repeated intra-bladder administration of chemotherapeutic agents is possible.
- In most cases, intra-bladder administration of the drug is convenient for the physician.

The objectives of intravesical chemotherapy are the following:

- Reduced recurrence rates and progression after surgical treatment.
- Destruction of subclinical tumor foci.
- Obtain a therapeutic effect with a minimum frequency of complications and side effects.
- Prevention of tumor cell implantation after TOUR.

The clinical and morphological features of the tumor are evaluated: stage, degree of differentiation, size and number of tumors, frequency of relapses, association with cancer in situ. Based on this, patients are traditionally divided into the following groups:

- Low risk group: pTa stage, G1 or G2 differentiation, single tumor, recurrence-free period of at least 3 months after transurethral resection. In this group, a single administration of chemotherapy after TOUR is sufficient [1].
- Intermediate risk group: pT1G2, multiple tumors of RT1, with multiple relapses, pT1G4, adjuvant BMXT is shown to all patients.
- High risk group: pT1, G3; multiple tumors; pT1 if recurrence occurs within 6 months after surgery; pTis, diffuse in nature. These patients are the most unfavorable prognosis. The distribution of patients according to the risk groups of progression and single direct introduction of chemotherapy is shown to all patients after transurethral resection. One-time administration is also shown to all patients after a TOUR biopsy of the bladder with suspected cancer. If

it is impossible to carry out chemotherapy immediately after transurethral resection, the administration of the chemotherapy should be carried out within the first 24 hours, otherwise the risk of recurrence is doubled [1,34,35]. There were no significant differences when using mitomycin C, epirubicin and doxorubicin. Basically, the prophylactic effect of intravesical therapy is realized immediately after its implementation. Currently, the use of intracellular chemotherapy reduces the incidence of relapse, but no effect on progression has been observed. The duration and intensity of intramolecular chemotherapy regimens have not been determined at this time due to data conflicts.

The absolute contraindication to carrying out intravesical chemotherapy is intra- and extraperitoneal perforation. Relative contraindications to carrying out chemotherapy - severe macrohematuria, severe dysuria. The chemical is diluted, as a rule, before being injected into the bladder with a suitable solvent. Catheterize the bladder in compliance with the rules of aseptic and antiseptic thin urethral catheter. The drug is injected intravenously, after which the urethral catheter is removed. The patient is advised not to urinate for the time necessary for exposure, and also to periodically change the position of the body in order to uniformly influence the chemical on all the walls of the bladder. To maintain the required concentration directly in the bladder, the patient is advised to limit fluid intake to several hours before the procedure. When developing treatment tactics in patients with non-invasive bladder cancer, accurate risk assessment is required to correctly stratify patients by prognosis groups. This will avoid the most common clinical errors in chemotherapy, patients with moderate and high risk groups are not adjuvant therapy, adjuvant chemotherapy is advisable in patients with good prognosis. It is important to keep the correct dose, concentration and exposure time of the drug, as well as the number of drug injections.

Today the most common drugs are:

Mitomycin is an antitumor antibiotic. Principle of action: when penetrating into the cell exhibits the properties of bi- and trifunctional alkylating agent, thereby selectively inhibiting the synthesis of deoxyribonucleic acid (DNA). In high concentrations it causes suppression of cellular ribonucleic acid (RNA) and protein synthesis, to a greater extent in phase G1 and S. Single dose of 40 mg. The drug is dissolved in 40 ml of isotonic sodium chloride solution. The first installation - on the day of completion of the TURB, then 1 time per week, intravesically 6-10 doses. Exposure is 1-2 hours [36,37,38].

Thiophosphamide is a trifunctional alkylating cyclo-specific compound of the ethyleneimine group that disrupts nucleic acid metabolism, blocks mitosis, forming complex bonds with DNA. It is given 20-60 mg 1-2 times a week intravesically. Exposure - up to 2 hours, course dose - 200-220 mg. The disadvantage is good permeability through the wall of the CM, which causes systemic side effects (leukemia, thrombocytopenia) [43,44].

Doxorubicin is an antitumor antibiotic of the anthracycline series. The mechanism of action is based on the formation of free radicals when interacting with DNA, the direct effect on the cell membrane with suppression of nucleic acid synthesis, inhibition of topoisomerase II. Scheme of administration: 30-50 mg daily № 10, or 20-50 mg 2-3 times a week [39].

Epirubicin is also an antitumor antibiotic of the anthracycline series, due to intercalation between the major nucleotide pairs in DNA, leads to disruption of DNA, RNA and proteins. Exposure - 1-2 hours. Gemcitabine is an antimetabolite of a pyrimidine analogues group. Scheme of administration: 1000-3000 mg 1-2 times a week. Exposure - 1-2 hours. [40,41,42].

It is not yet possible to speak of any of the drugs as the "gold standard" because there is not enough clinical material to build such a bold conclusion. Moreover, the efficacy of chemotherapy was to determine the efficacy of Doxorubicin in intra-bladder instillations in patients with NMIBC (Ta-T1, G 1 -2).

Objective

Was to evaluate the results of treatment of patients with NMIBC who underwent TUR and patients with NMIBC who underwent TUR and subsequent intravesical instillations of Epirubicin.

Subjects and methods

An analysis of the results of treatment of 45 patients who underwent treatment and follow-up in the clinic of the Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine during 2012-2018. The youngest patient was 14 years old, the oldest 89 years old. The ratio of men to women was 4: 1.

The criterion for inclusion of patients in the study was the presence of urothelial bladder cancer stage Ta, T1; histologically G1-G2, total EORTC glass score up to 9 points.

The exclusion criteria were patients with T2 bladder invasion, histologically G3, patients who had previously received chemotherapy or BCG therapy, patients with bladder resection.

In the first group (n = 32) patients underwent only TUR of bladder tumors.

In the second group (n = 31) was combined treatment TUR and intravesical administration of Epirubicin 50 mg according to the scheme 1 / week - 4 weeks, 1 / month - 4 months.

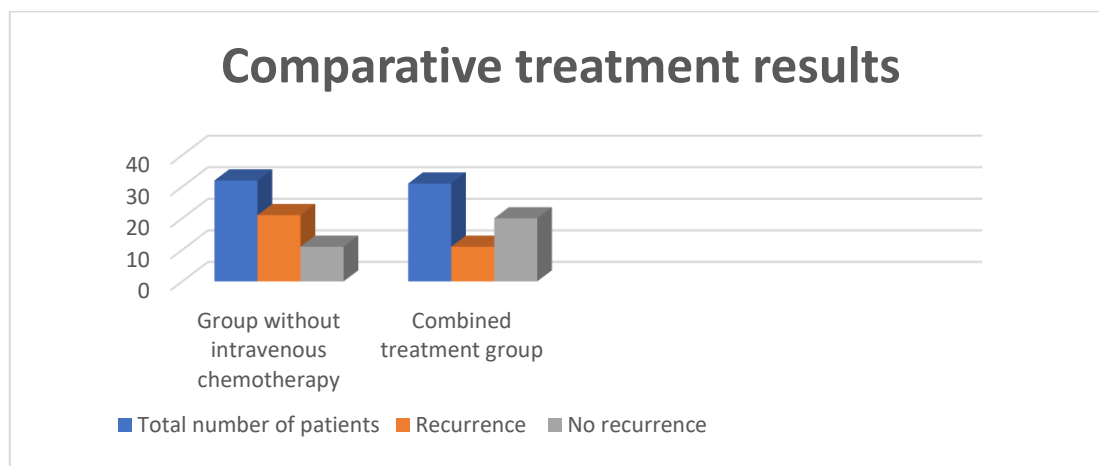
The reason for intravesical chemotherapy was the presence of risk factors in the patient such as: the formation of more than 2 cm, multifocal growth. Tumor growth was confirmed histologically in all patients.

Statistical processing of the results was performed using Microsoft Word, Excel, to determine the differences between qualitative variables used χ^2 - criterion. The reliability of the differences is set at $p < 0.05$.

Results

The duration of supervision was 2 years. Analysis of the results showed that when performing TUR without further intravesical chemotherapy, the recurrence was 65.6% (21 patients), with 11 patients showing progression of the disease.

In the group of patients who received combination therapy - TUR and the course of Epirubicin relapse is 35.5% (11 patients), in 6 patients there was progression of the disease.



Conclusions

Analyzing the dynamics of recurrence and progression of bladder cancer, we can conclude that the implementation of TUR followed by intravesical administration of Epirubicin makes it possible to reduce the recurrence rate, thereby increasing the recurrence-free period and reduce disease progression.

REFERENCES

1. European Association of Urology Guidelines 2019
2. Ferlay J, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012, 2013. 2015.
3. Burger M, et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. Eur Urol 2013; 63: 234.
4. Cancer in Ukraine, Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine 2019.
5. Gantsev Sh.Kh., Zimichev A.A., Pryanichnikova M.B., Maklakov V.N. Features of the complex multifactorial risk assessment of bladder cancer // Kuban Research Medical Gazette. – 2010. – №3-4. – P. 47-49.
6. Zavyalova E.S., Al'-Shukri A.S., Korneev I.A., Yagmur O.D. Role of antigens Ki-67, p53 and bcl-2 in predicting the clinical course of transitional cell bladder cancer // Nephrol-ogy. – 2009. – Vol. 13, №1. – P. 90-94.
7. Zavyalova E.S., Korneev I.A., Yagmurov O.D., Al'-Shukri A.S. The value of the classical morphological traits for predicting the course of transitional cell bladder cancer // Nephrol-ogy. – 2010. – Vol. 14, №1. – P. 81-85.
8. Zimichev A.A., Pryanichnikova M.B., Fedorina T.A., Shuvalova T.V., Maklakov V.N., Nizamova R.S., Bogdanov S.N. Morphological and mathematical evaluation of the role of factors predicting the long-term results of treatment of bladder cancer // Creative Surgery and Oncology. – 2010. – №4. – P. 33-35.
9. Andreyeva YuU, Frank GA. Tumors of the urinary system and male genital organs. Morphological diagnostics and genetics: A manual for doctors. M.: Practical medicine; 2012. 216 p.
10. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR et al. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Am J Surg Pathol 1998 Dec;22(12): 1435-18.
11. El-Bolkainy MN, Mokhtar NM, Ghoneim MA and Hussein MH: The impact of schistosomiasis on the pathology of bladder carcinoma. Cancer 1981; 48: 2643, Mostafa MH, Sheweita SA and O'Connor PJ: Relationship between schistosomiasis and bladder cancer. Clin Microbiol 1999; 1:972.
12. Burger M, van der Aa MN, van Oers JM et al. Prediction of Progression of Non Muscle-Invasive Bladder Cancer by WHO 1973 and 2004 Grading and by FGFR3 Mutation Status: A Prospective Study. Eur Urol 2008 Oct;54(4):835-44.
13. Pan CC, Chang YH, Chen KK et al. Prognostic significance of the 2004 WHO/ISUP classification for prediction of recurrence, progression, and cancer-specific mortality of non-muscle-invasive urothelial tumors of the urinary bladder: a clinicopathologic study of 1,515 cases. Am J Clin Pathol 2010 May;133(5):788-95.
14. Ponukalin A.N., Glybochko P.V., Blumberg B.I., Galkina N.G., Mikhailov V. Yu. Effect of method of urine derivation in the long-term outcomes and quality of life in patients with bladder cancer after radical cystectomy // Medical Bulletin of Bashkortostan. – 2011. – Vol. 6, №2. – P. 195-200.
15. Ponukalin A.N., Maslyakova G.N., Tsmokalyuk E.N. Evaluation of the effectiveness of different immunohistochemical markers in the staging and prognosis of muscle-invasive bladder cancer // Saratov Journal of Medical Science. – 2014. – Vol. 10, №1. – P. 124-128.
16. Sivkov A.V., Roshchin D.A., Perepechin D.V., Nikonova L.M., Polozhentseva M.O. Molecular genetic markers of bladder cancer in clinical practice // Experimental and Clinical Urology. – 2013. – №3. – P. 48-55.
17. Sinitsyna O.V., Chonkina A.A., Ilyushkina M.V., Dolgikh D.V. Molecular genetic risk assessment method unfavorable course of the disease in superficial

- bladder cancer // *Medical alphabet.* – 2014. – Vol. 3, №15. – P. 56-57.
18. Traksov I.S., Plotnikova N.A., Kemaykin S.P., Khari-tonova T.V. Features of incidence of bladder cancer in different population groups of the Republic of Mordovia (data for 2010) // *Magazine of Scientific Articles and Health Education in the XXI century.* – 2013. – Vol. 15, № 1-4. – P. 358-359.
19. Gao W., Romkes M., Zhong S., Nukui T., Branch R., Keo-havong P., Persad R. A., Smith P. J. B. Genetic polymorphisms in the DNA repair genes XPD and XRCC1, p53 gene mutations and bladder cancer risk // *Oncology Reports.* – 2010. – Vol. 24, №1. – P. 257-262.
20. Zabolotneva A.A., Gaifullin N.M., Buzdin A.A., Alekseev B.Ya., Andreeva Yu. Yu., Shegay P.V., Sokov D.G., Rusakov I.G. Molecular markers for bladder cancer: from the private to the whole // *Oncourology.* – 2011. – №3. – P. 16-19.
21. Derzhavets L.A. Laboratory findings and survival of patients suffering from bladder cancer // *Siberian Journal of Oncology.* – 2013. – №4 (58). – P. 12-16.
22. Zavyalova E.S., Al'-Shukri A.S., Korneev I.A., Yagmur O.D. Role of antigens Ki-67, p53 and bcl-2 in predicting the clinical course of transitional cell bladder cancer // *Nephrol-ogy.* – 2009. – Vol. 13, №1. – P. 90-94.
23. Nargund V. H., Tanabalan C. K., Kabir M. N. Management of non-muscle-invasive (superficial) bladder cancer // *Seminars in Oncology.* – 2012. – Vol. 39, №5. – P. 59-72.
24. Caprina A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. State of oncology care to the population of Russia in 2012. – M.: FGBI «MNIOI named after P.A. Herzen» Health Ministry of Russia. – 2013. – 232 p.
25. Lelyavin V.K., Dvornichenko V.V. Muscle-noninvasive bladder cancer: clinical and morphological features, treatment outcomes, survival analysis // *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Academy of Medical Sciences.* – 2013. – №5 (93). – P. 53-59.
26. Gadaborshev M.I., Levkevich M.M. Problems of organization providing urologic care to the population (for example, the Krasnodar Territory) // *Siberian School of Finance.* – 2012. – № 2. – P. 22-28.
27. Babayan A.Yu., Karyakin O.B., Teplov A.A., Zaletaev D.V., Nemtsova M.V. Molecular genetic changes that determine the pathogenesis of superficial and invasive bladder cancer // *Molecular Biology.* – 2011. – Vol. 45, №6. – P. 1012-1016.
28. Zimichev A.A., Pryanichnikova M.B., Maklakov V.N. An integrated approach to forecasting long-term results of treatment of bladder cancer // *Urology.* – 2010. – №3. – P. 47-49.
29. Pavlov V.N., Izmailov A.A., Izmailova S.M., Kazikhinurov A.A., Urmantsev M.F. Genetic markers of prognosis of recurrence of superficial bladder cancer // *Urals Medical Journal.* – 2012. – №3. – P. 20-23.
30. Schenk-Braat E.A., Bangma C.H. Immunotherapy for superficial bladder cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2005; 54(5):414–23.
31. Jalón Monzón A., Fernández Gómez J.M., Escaf Bramada S. et al. Therapeutic effect of immediate postoperative mitomycin C in patients with low-risk non-muscle-invasive bladder tumors. *Actas Urol Esp* 2008;32(8):811–20.
32. Jahnson S., Wiklund F., Duchek M., Mestad O., Rintala E., Hellsten S., Malmström P.U. Results of secondlook resection after primary resection of T1 tumour of the urinary bladder // *Scand. J. Urol. Nephrol.* 2005. Vol. 39(3). P. 206–210.
33. Divrik R.T., Yildirim U., Zorlu F., Ozen H. Te effect of repeat transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with T1 tumors of the bladder who received intravesical mitomycin: a prospective, randomized clinical trial // *J. Urol.* 2006. Vol. 175(5). P. 1641–1644.
34. Sylvester R.J., Oosterlinck W., Witjes J.A. Te schedule and duration of intravesical chemotherapy in patients with non muscle invasive bladder cancer: a systematic review of the published results of randomized clinical trials // *Eur. Urol.* 2008. Vol. 53(4). P. 709–719.
35. Huncharek M., McGarry R., Kupelnick B. Impact of intravesical chemotherapy on recurrence rate of recurrent superficial transitional cell carcinoma of the bladder: results of a meta-analysis // *Anticancer. Res.* 2001. Vol. 21(1B). P. 765–769.
36. Witjes J.A. et al. *Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology / Vogelzang N.J., Scardino P.T., Shipley W.T.J., Coffey D.S. eds.* – Philadelphia, PA: Williams and Wilkins, 1996. – P. 416427.
37. Zein T.A. et al. Bone marrow suppression after intravesical mitomycin C treatment // *J. Urol.* – 1986. – Vol.136. – P. 459460.56. Zhang S. et al. The preventive recurrent results of postoperative intra-vesical instillation therapy in bladder cancer // *Chung Hua Wai Ko Tsa Chih.* – 1995. – Vol.33(5). – P. 304306.
38. Eijstein A. et al. Reduced bladder capacity in patients receiving intravesical chemoprophylaxis with mitomycin C // *Brit. J. Urol.* – 1990. – Vol.66. – P. 386.
39. Kamat A.M., DeHaven JI., Lamm D.L. // *Urology.* – 1999. – V. 54 (1). – P. 56–61.
40. Rajala P., Liukkonen T., Raitanen M. et al. // *J. Urol.* – 1999. – V. 161 (4). – P. 1133–1135.
41. Mungan N.A., Witjes J.A. // *Brit. J. Urol.* – 1998. – V. 82 (2). – P. 213–223.
42. Zincke H., Utz D.C., Taylor W.F. et al. // *J. Urol.* – 1983. – V. 129 (3). – P. 505–509.
43. Soloway M.S. et al. Thiotepa induced myelosuppression: a review of 670 bladder instillations // *J. Urol.* – 1983. – Vol.130. – P. 889891.
44. Connolly J.G. *Chemotherapy of superficial bladder cancer // Carcinoma of the bladder / Connolly J.G., ed. – Raven, New York, 1981. – P. 165-175.*

Isanbaeva L.M.

Doctor of Philosophy. Ph.D. Docent.

Tashkent Institute of Postgraduate Medical Education.

Department of Obstetrics Gynecology and Perinatal Medicine.

THE RESULTS OF THE STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF VARIOUS PROTOCOLS OF CONSERVATIVE TREATMENT OF UTERINE FIBROIDS IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE, DEPENDING ON THE CLINICAL COURSE OF UTERINE FIBROIDS.

Исанбаева Л.М.

кандидат медицинских наук,

доцент кафедры акушерства гинекологии и Перинатальной медицины

Ташкентского института усовершенствования врачей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ПРОТОКОЛОВ КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ МИОМЫ МАТКИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ МИОМЫ МАТКИ.

Summary. Today, uterine fibroids are increasingly common in young women, with most of them still failing to implement their reproductive plans. The issue of treating such women is very relevant. The need for a differentiated approach to the choice of preoperative treatment method, taking into account the nature of the growth of myomatous nodes, the reasons for the ineffectiveness of previous treatment protocols, the state of the endometrium and the functional state of the ovaries is urgent. Taking into account the above, the main purpose of our study was a comparative study of the effectiveness of modern technologies of preoperative preparation of patients with uterine fibroids and infertility.

Аннотация. На сегодняшний день миома матки все чаще встречается у молодых женщин, причем большинство из них еще не успевают реализовать своих репродуктивных планов. Вопросы лечения таких женщин весьма актуальны. Необходимость дифференцированного подхода к выбору метода предоперационного лечения с учетом характера роста миоматозных узлов, причин неэффективности предыдущих протоколов лечения, состояния эндометрия и функционального состояния яичников является актуальной. Учитывая вышеизложенное основной целью нашего исследования явилось сравнительное изучение эффективности современных технологий предоперационной подготовки больных с миомой матки и бесплодием.

Key words: *uterine fibroids, reproductive age, pre-operative treatment, conservative myomectomy, agonists gonadotropin relizing hormone, selective progesterone receptor modulators.*

Ключевые слова: *миома матки, репродуктивный возраст, предоперационное лечение, консервативная миомэктомия, агонисты гонадотропин рилизинг гормонов, селективные модуляторы рецепторов прогестерона.*

Частота миомы матки (ММ) на сегодняшний день неуклонно растет, наблюдается тенденция к омоложению больных с ММ. Пик заболеваемости приходится на 35-45 лет [1,2,3,4]. Результаты наших исследований ретроспективного анализа 3244 историй болезни, обратившихся женщин на стационарное лечение в клиники г.Ташкента за период 2001-2004 гг. и проспективных наблюдений за 473 женщин носительниц миомы матки свидетельствовали, что более половины из них составляют женщины репродуктивного возраста и в 50% из них еще не успели реализовать свою детородную функцию. В связи с этим, особую актуальность приобретает разработка и внедрение консервативных методов лечения миомы матки у данных пациенток. В последние годы широкое распространение получают органосберегающие методы хирургического лечения миомы матки [5,6,7,8,9,10]. Вместе с тем, до настоящего времени отсутствуют стандарты дифференцированного подхода к выбору метода предоперационного

лечения с учетом характера роста миоматозных узлов, причин неэффективности предыдущих протоколов лечения, состояния эндометрия и функционального состояния яичников. Учитывая вышеизложенное нами была предпринята попытка изучения эффективности двух протоколов предоперационной подготовки у женщин страдающих миомой матки репродуктивного возраста. Под нашим наблюдением находились 83 женщины, репродуктивного возраста с миомой матки, страдающих бесплодием. Средний возраст пациенток составил 33.4 ± 4.8 лет. Всем больным проводилось обследование, включающее наряду с клинико-лабораторными анализами, ультразвуковое сканирование и доплерографическое исследование кровотока в сосудах органа малого таза. Показатели кровотока в маточных сосудах оценивали в цветовом доплеровском режиме – вычисляли индекс резистентности сосудов (ИР), а также

максимальную скорость кровотока в них до и после лечения.

Длительность с момента обнаружения миомы матки у 42 (50,6%) составило до 3-х лет, у 30 (36,1%) от 3-х до 5 лет, и у 11 (13,3%) более 5 лет. Быстрый рост миомы матки был отмечен у 49 (59%). Размеры матки с миоматозными узлами соответствующими 13-14 и более недель беременности обнаружено у 22 (26,5%) пациенток, у 20 (24,1%) на 11-12 недель, у 18 (21,7%) – 9-10 недель и у 23 (27,7%) – 6 – 8 недель.

По данным УЗИ единичные миоматозные узлы были выявлены у 25 (30,1%); у 58 (69,9%) множественные (от двух до 6 узлов). Размеры миоматозных узлов колебались 30 мм до 145 мм. У 48 (57,8%) диаметр миоматозных узлов составил от 30 до 80 мм, у 18 (21,7%) – 40 -60 мм и у 17 (20,5%) диаметр узлов был более 80 мм. Средний объем матки составил 857,7+227,4 мм.

Функциональное состояние яичников у обследованных пациенток оценивалось на основании содержания стероидных гормонов, гонадотропинов, данных УЗИ и гистологического исследования соскоба эндометрия. Из общего числа пациенток с быстрорастущей миомой матки и бесплодием у 61 (73,5%) диагностирована ановуляция, у 18 (21,7%) недостаточность лютеиновой фазы менструального цикла и у 4 (4,8%) двухфазный овуляторный цикл.

Результаты гистологического исследования соскоба эндометрия свидетельствовали, что у 27 (32,5%) была железистая гиперплазия; у 32 (38,6%) железисто-кистозная гиперплазия; у 2 (2,4%) аденоматозная гиперплазия и у 22 (26,5%) неполноценная секреторная фаза.

Учитывая две причины нарушения репродуктивной функции: наличие ановуляции и недостаточности функции желтого тела и множественные миоматозные узлы нами был разработан протокол предусматривающий предоперационную подготовку и послеоперационное ведение. Проведение консервативной миомэктомии не решает проблему ановуляции. Коррекция дисфункции яичников, предусматривающая стимуляцию овуляции, противопоказана при наличии гиперплазии эндо и миометрия. Целью данного исследования явилось сравнительное изучение эффективности современных технологий предоперационной подготовки больных с миомой матки и бесплодием. Из общего числа пациенток с миомой матки и бесплодием были сформированы 2 группы. 1 группа 47 пациенток в целях предоперационной подготовки был назначен агонист гонадотропин релизинг гормона трипторелин пролонгированного действия (Диферелин 3,75мг) № 3. Инъекции назначались на 2-5 день менструального цикла каждые 28 дней, с ежемесячным контролем за процессом регрессии миоматозных узлов и доплерографической оценкой кровотока в матке и миоматозных узлах.

2 группа 36 пациенток до операции получали селективные модуляторы прогестероновых рецепторов Улипристал ацетат (Эсмия) в дозе 5 мг один раз в день в течении 12 недель.

В динамике лечения проводилась оценка функционального состояния яичников, УЗИ показатели объема матки и миоматозных узлов, доплерографически оценивали показатели индекса резистентности и пульсационного индекса в маточных артериях.

Таблица №1

Результаты анализа эффективности применения трипторелина 3,75 мг у пациенток с миомой матки.

Анализируемые параметры	Пациентки с миомой матки n=47	
	До лечения	После лечения
Средние значения объема матки, мм ³	549,5±232,5	227,7±87,4*
Средние значения объема доминирующего миоматозного узла, мм ³	267,7±97,5	94,7±18,7*
Толщина эндометрия, мм	18,4±2,8	2,7±0,8*
Эстрадиол, нмоль.л	365,7±37,5	50,4±2,8*
ФСГ, МЕ.л	9,4±4	1,2±0,8*
ЛГ, МЕ.л	7,5±1,7	0,9±0,01*
Скорость кровотока, cm, м./с	0,53±0,03	0,24±0,02*
Индекс резистентности в маточных артериях	0,75±0,01	0,45±0,02*
Пульсационный индекс в маточных артериях	1,95±0,9	2,23±1,2*

Примечание : * - P<0,01

Результаты изучения эффективности предоперационной подготовки пациенток с миомой матки на фоне трехкратного применения трипторелина в дозе 3,75 свидетельствуют об уменьшения как объема матки, так и размеров доминантных узлов. Среднее значение объема матки уменьшилось с 549,5± 232,5 мм³ до 227,7±87,4мм³ после третьей инъекции трипторелина (P<0,01). Средние размеры доминантных узлов уменьшились с 267,7±97,5мм³

до 97,7±18,7 мм³. Существенные изменения наблюдались и в невелировании гиперпластических процессов эндометрия. Так, средние значения толщины эндометрия до лечения составили 18,4±2,8 мм, а после трех инъекций трипторелина 3,75 составили 2,7±0,8 мм (P<0,01).

Результаты индивидуального анализа результатов ультразвуковой диагностики размеров матки и миоматозных узлов показали, что у 7 (14,9%) не отмечено уменьшение размеров

доминантного миоматозного узла по сравнению с исходными параметрами, вместе с тем отмечено нивелирование гиперпластических процессов в эндометрии. Объем матки и диаметр миоматозных узлов, в среднем уменьшились на 40%.

С помощью ультразвукового исследования с доплеровским картированием мы определяли изменение скорости интра, перинодулярного кровотока до и после лечения. При проведении доплеровского исследования отмечено понижение индекса резистентности и пульсационного индекса. Изменение индекса резистентности и пульсационного индекса в маточных артериях на фоне лечения трипторелином 3,75 были существенными. Отмечалось достоверное снижение индекса резистентности и повышение пульсационного индекса. Средняя разница в индексе резистентности до и после третьей инъекции трипторелина 3,75мг составила 0,15, а средняя разница пульсационного индекса равнялась 0,29. Статистическое значимое снижение индекса резистентности в крупных сосудах матки

корректировало со значительным снижением уровня эстрадиола, развитием атрофических изменений в эндометрии.

Всем 47 пациенткам произведена миомэктомия, 44 из них оперативные вмешательства были проведены эндоскопическим доступом. У 3-х больных операция была завершена лапаротомным доступом. Показанием к лапоротомии послужило низкое расположение интерстициальных миоматозных узлов диаметром 8-10 см, что затруднило их энуклеацию. Величина кровопотери во время операции в среднем составила 130,0±9,8 мл.

Тактика послеоперационного наблюдения заключалась в УЗИ контроле, оценке функционального состояния яичников. Менструальная функция восстановилась через 67,4±9,7 дней после последней инъекции трипторелина 3,75. Двухфазный овуляторный цикл отмечен у 29 (61,7%) пациенток, беременность наступила у 17 (36,2%) женщин.

Таблица №2

Результаты анализа эффективности применения улипристала ацетата у пациенток с миомой матки.

Анализируемые параметры	Пациентки с миомой матки n=36	
	До лечения	После лечения
Средние значения объема матки, мм ³	673,5±244,5	248,7±69,4*
Средние значения объема доминирующего миоматозного узла, мм ³	258,8±101,4	114,5±38,5*
Толщина эндометрия, мм	8,7±3,4	15,4±3,8*
Эстрадиол, нмоль.л	347,8±45,4	147,5±38,7*
ФСГ, МЕ.л	10,4±1,8	8,7±1,7
ЛГ, МЕ.л	8,8±1,7	7,6±1,8
Скорость кровотока, v _m , м/с	0,55±0,02	0,48±0,02
Индекс резистентности в маточных артериях	0,69±0,02	0,39±0,01*
Пульсационный индекс в маточных артериях	1,47±0,8	1,95±1,1

Примечание : * - P<0,01

Как следует из данных таблицы №2 на фоне лечения УПА отмечалось уменьшение размеров матки и регресс доминирующего узла. Разница в объеме матки составила 424,8 мм³, а миоматозного узла 171,3 мм³. Обращает внимание, что после 12 недельного приема УПА не наблюдалось атрофических изменений в эндометрии и М-эхо после лечения составил 15,4± 3,8 мм. Значения эстрадиола и после лечения укладывались в рамки нормативных значений и составили 147,5±38,7 пмоль.л. Значимого подавления уровня гонадотропинов на фоне лечения не зарегистрировано. Содержание ФСГ до лечения 10,4±1,8 МЕ.л, а после терапии 8,7 ± 1,7 МЕ.л; ЛГ 8,8±1,7МЕ.л и 7,6±1,8 МЕ.л (P>0,05).

Результаты доплерометрических исследований показали снижение ИР с 0,69±0,02 до 0,39±0,01 и повышение пульсационного индекса с 1,47 ±0,8 до 1,95±1,1. По результатам индивидуального анализа, данных УЗИ и доплерографического картирования показало, что у 8 пациенток, что составило 22,2% не отмечалось положительных сдвигов как в объеме матки и доминирующего узла.

Поле окончания приема УПА, по данным ультразвукового исследования выявлены структурные изменения эндометрия в виде участков повышенной и пониженной эхогенности. У 8 пациенток отмечены множественные кистозные разрастания диаметром 5-10мм.

Всем 36 больным произведено миомэктомия эндоскопическим путем. В послеоперационном периоде менструальный цикл восстановился через 47,8±2,8 дней после окончания приема УПА. Двухфазный менструальный цикл диагностирован у 12 (33,3%), беременность наступила у 5 (13,9%) женщин.

Обсуждение. Миома матки достаточно распространенное заболевание органов репродукции. по данным литературы частота составляет от 20 до

77 % [2,11]. Результаты наших исследований ретроспективного анализа 3244 историй болезней женщин с миомой матки, поступивших в стационары г. Ташкента за период 2001-2004 гг. показали, что из общего числа оперированных женщин, у 91,7% (480 чел.) произведено удаление матки. Действительно, до некоторого времени

радикальные операции были приоритетными при лечении миомы матки. Так, по данным Hoh J.K., Lee W.M. с соавт (2013); Ибрагимова Д.М., Доброхотовой Ю.Э (2011) от 41 до 74% среди всех гинекологических операций является гистерэктомия, выполненная по поводу миомы матки. На сегодняшний день современным направлением в лечении миомы являются органосохраняющие операции [4,5,9]. Известно, что миома матки может быть фактором риска развития бесплодия. В наших наблюдениях из 473 пациенток с миомой матки бесплодие было выявлено у 83 женщин что составило 17.5% Так, по данным литературы бесплодие у больных с миомой матки отмечается в 18-24 % случаев [4]. На сегодняшний день одним из препаратов, рекомендуемых для консервативного лечения миомы матки являются агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (аГнРГ) и селективные модуляторы рецепторов прогестерона. Их можно использовать как самостоятельно, так и в комплексе в предоперационной подготовке. Результаты наших исследований показали, объем матки и миоматозных узлов при применении аГнРГ уменьшились на 41 % и 35%, при использовании селективных модуляторов прогестерона на 44 и 37% соответственно. Значимое уменьшение размеров матки и миоматозных узлов, при использования данных препаратов для лечения миомы матки были отмечены и в ряде исследований [2,3,4,6,7]. Однако, на вопрос: «Какой препарат предпочтителен для предоперационной подготовке у женщин репродуктивного возраста с бесплодием?» однозначных ответов в литературе не удалось найти. Результаты наших исследований позволили сделать следующие выводы:

1. На фоне применения Трипторелина 3,75 мг пациенток с миомой матки в течении 3-х месяцев наблюдается уменьшение объема матки и доминирующих миоматозных узлов в среднем на 41% и 35% соответственно и невелирование гиперпластических процессов эндометрия.

2. Использование в предоперационной подготовке трипторелина способствует формированию двухфазного овуляторного цикла в 61,7% случаев и наступлению беременности в 36,2%.

3. Применение УПА по 5 мг в течении 12 недель способствовало регрессии объема матки на 44 %, миоматозных узлов на 37 % соответственно.

4. На фоне применения УПА двухфазный овуляторный цикл сформировался у 33,3% и беременность наступила у 13,9% женщин.

5. На фоне использования УПА отмечены многочисленные кистозные разрастания эндометрия у 22,2% пациенток.

6. Применение трипторелина 3,75 мг было неэффективным в 14,9%, УПА – в 22,2% случаев.

Таким образом, применение агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона, трипторелина

3,75 и селективных модуляторов прогестероновых рецепторов в предоперационной подготовке пациенток с миомой матки показало свою эффективность. Учитывая, что УПА и трипторелин имеют различные механизмы действия, следует корректно подходить к вопросу отбора контингента больных готовящихся к миомэктомии. У больных с пролиферативной миомой матки сочетающейся с гиперпластическими процессами эндометрия, нарушением функции яичников целесообразно назначение агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона. Восстановление репродуктивной функции в данной группе пациенток в два раза эффективнее.

Список литературы

- 1.АбрамоваС.В.,МироноваИ.Н.,КургановаО. Ю.Клинико-эпидемиологические аспекты миомы матки (обзор литературы) // Бюллетень науки и практики. 2018.-Т. 4, № 4. –С. 69-74.
- 2.Адамян Л.В., Андреева Е.Н.,Сухих Г.Т. Миома матки: диагностика, лечение и реабилитация // Проблемы репродукции. - 2017.-Т. 23, № 3. –С. 466-515.
- 3.Кудрина Е.А., Бабурин Д.В. Миома матки: современные аспекты патогенеза и лечения // Архив акушерства и гинекологии им В.Ф. Снегирева. - 2016. -3(1) с. 4-10.
- 4.Сидорова У.С., Унянян А.Л., Агеев М.Б. Современное состояние о патогенезе, клинике диагностики и лечении миомы матки у женщин репродуктивного возраста // Акушерство гинекология и репродукция. - 2012.-Т.6.-№4.
- 5.Спиридонова Н.В., Шатунова Е.П., Басина Е.И. Миома матки: этиология, патогенез. Тактика акушера-гинеколога. М., «Офорт».-2013. Spiridonova NV, Shatunova E.P.,Basina E.I. 2013 . Mioma matki: etiologiya, patogenez. Taktika akushera-ginekologa. M., "Ofort". (In Russ.).
6. Chabbert-Buffet N., Esber N., Bouchard P. Fibroid growth and medical options for treatment // Fertil. Steril. - 2014. - Vol. 102, N 3. P. 630–639.
7. Donnez J., Francisco Vazquez F., Tomaszewski J., Nouri K. Long-term treatment of uterine fibroids with ulipristal acetate // Fertil.Steril.-2014.-Vol. 101, N 6. P. 1565–1573.
- 8.Khan A.T., Shehmar M., Gupta J.K. Uterine fibroids: current perspectives. Int. J. Women's Health.- 2014.- no. 6, pp. 95-114.
- 9.Paul P.G., Paul G., Radhika K.T. Laparoscopic Myomectomy for a Plethora of Submucous Myomas // J. Minim. Invasive Gynecol.- 2017.- Vol. 24 (6). – P. 893-894.
- 10.Quinn S.D., Vedelago J., Gedroyc W. Safety and five-year re-intervention following magnetic resonance-guided focused ultrasound (MRgFUS) for uterine fibroids // Eur. J. Obstet Gynecol Reprod Biol. - 2014. - Vol.182. - P.247-251.
11. Sparic R, Mirkovic L, Malvasi A.,Tinelli A. Epidemiology of uterine myomas: a review. Int J Fertil Steril. - 2016.- 9: 424 435.

THE ASSESSMENT OF THE INFLAMMATION OF THE SCAR OF THE UTERUS: MORDEN REVIEW

Ковида Наталія Романівна

Лікар акушер-гінеколог,

Київський міський пологовий будинок № 1

СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ОЦІНКУ НЕСПРОМОЖНОСТІ РУБЦЯ НА МАТЦІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Summary. The article presents materials of a literature review on modern methods for diagnosing the viability of a uterine scar to establish its main diagnostic criteria.

Резюме. В статті представлені матеріали огляду літератури об сучасних методах діагностики достояльності рубця на матці для встановлення її основних діагностичних критеріїв.

Детально изложены. Детально изложены результаты последних исследований. Данная проблема сохраняет свою актуальность в наши дни, ввиду отсутствия чётких критериев диагностики несостоятельности рубца на матке и постоянного роста количества кесаревого сечения.

Key words: Cesarean section, the failure of uterine scar, the diagnostic criteria.

Ключевые слова: кесарево сечение, несостоятельность рубца на матке, диагностические критерии.

Оперативне розродження залишається однією з основних дискусійних і дослідницьких тем, що інтенсивно обговорюються у вітчизняній та зарубіжній літературі [5, 6, 19, 28]. Високий рівень застосування кесарева розтину (далі - КР) становить одну з найважливіших проблем сучасного акушерства, хоча темпи його зростання не завжди визначають адекватне зниження перинатальної захворюваності та смертності.

Спроможний рубець — один із резервів зниження частоти абдомінального розродження [34, 3, 38, 40]. Основним критерієм, що визначає результат вагітності та пологів у жінок з рубцем на матці (далі - РМ), служить стан клініко-функціональної та морфо-функціональної спроможності рубця [4, 11].

У зв'язку з цим актуальними є питання репарації рубця на матці, які багато в чому визначають перебіг післяопераційного періоду і надалі стан репродуктивної функції жінки, час настання наступної вагітності, її перебіг і результат. Якість загоєння рани на матці після операції КР навіть за відсутності несприятливих чинників має різноспрямований характер [2, 9].

Незважаючи на значні успіхи в діагностиці стану післяопераційного РМ, особливо у тих жінок, хто перенесли кесарів розтин, проблема оцінки неспроможності РМ залишається не вирішеною.

При консервативному розродженні жінок з РМ проводять ретельне клінічне та інструментальне спостереження за характером пологової діяльності, станом РМ, тривалий постійний кардіомоніторинг плода [2, 8, 37]. Після вилиття навколоплідних вод окремі автори рекомендують застосовувати інвазивні методи: внутрішню токографію для оцінки скорочувальної діяльності матки, ендоскопічну оцінку стану РМ і накладення електрода на передлеглу голівку плода для рН-моніторингу його крові.

Проте на сьогодні ультразвукове дослідження (далі - УЗД) заслужено зайняло одне з провідних місць в діагностиці патології матки і придатків. Визначення стану органів репродуктивної системи жінки "в реальному масштабі часу" та абдомінальне сканування дає можливість швидко дистанційно визначити стан цих органів та виявити патологічні зміни [12].

Ультразвукове сканування відноситься до додаткових методів діагностики стану РМ після КР. За даними авторів [29], найбільш достовірні відомості про рубець можна отримати в 3-38 тижнів вагітності.

Будо доведено, що результати ехоскопії РМ лише в 5,5 % випадків співпали з інтраопераційними. В 31,3 % випадків були отримані хибнопозитивні результати, коли при незадовільних ехографічних даних до операції, інтраопераційно рубець не візуалізувався. У ряді досліджень [12], при ультразвуковому обстеженні неповноцінним рубець виявився в 46 % випадків, що в 6 % досліджень було підтверджено гістологічно.

Проте УЗД стану органів репродуктивної системи у невагітних жінок з РМ після КР мають поодинокий характер. Ці дослідження у жінок з РМ на етапі прегравідарної підготовки не повністю ідентифікують абсолютні зміни в ділянці РМ, проте чітко вказують на наявність спайкового процесу у вигляді гіперехогенних структур. Такі зміни спостерігались у 60,0 % жінок, поряд з цим, у 50,0 % таких жінок виявлялось зміщення органів малого таза [8].

На думку інших авторів [8, 16, 20] ультразвукова оцінка стану РМ після попереднього КР можлива на етапі прегравідарної підготовки жінок до наступних пологів. Така оцінка стану рубця у невагітних жінок має включати визначення стану міометрію в ділянці рубця, наявність або

відсутність видимих деформацій міометрію та порожнин, вимірювання товщини міометрію та визначення його ехогенності [16, 20, 2].

Нажаль при вагітності перелік методик для оцінювання стану рубця доволі обмежений і можна застосовувати лише ехографію і доплерометрію [5, 8, 2]. Такі дослідження представлені результатами визначення стану рубця після КР здебільшого у другій половині вагітності і, на думку декотрих авторів [8], через те, що дослідження в ранні терміни вагітності вважаються малоінформативними. Однак, є дослідження, які показують, що ехографія в I триместрі дозволяє виявити в кожній другій пацієнтки в терміні вагітності 14-16 тиж. в ділянці перешийку матки гіпоехогенні зони, що може бути критерієм діагностики порушеного стану рубця після КР [30, 35].

Слід зазначити, що застосуванням абдомінального УЗД не дозволяє здійснити чітку візуалізацію дефектів міометрію.

Проведення ж ендовагінального УЗД дозволяє отримати більш детальну картину стану органів малого тазу та стан РМ після КР [33]. При цьому, ознаками неспроможного рубця служать наявність нерівностей передньої стінки матки і зменшення її товщини, в порівнянні з її станом у неоперованих жінок [14, 24].

Більшість дослідників [32-33] вважають, що ультразвукова діагностика стану рубця після КР є найбільш надійним методом визначення неспроможності рубця, що дозволяє виділити вагітних жінок в групі високого та низького ризику щодо можливого розриву матки. Ультразвукове дослідження пацієнток групи високого ризику з ознаками неспроможності рубця, за даними декотрих досліджень, може стати важливим фактором діагностики існуючого високого ризику розриву матки протягом вагітності [10, 13].

Важливою процедурою при проведенні УЗД у жінок з РМ після КР є визначення стану нижнього сегменту матки [26, 28]. При цьому найбільш інформативним дослідження є ультразвукова оцінка РМ на фоні «наповненого сечового міхура» в терміні вагітності 28-36 тижнів. У цьому випадку під час проведення УЗД нижнього сегменту матки звертають увагу на його товщину, рівномірність, наявність або відсутність акустичних ущільнень, їхню гетерогенність, фрагментарність, розміщення плаценти (особливо на передній стінці матки).

Так за даними наукових досліджень [1, 13, 35], вимірювання товщини міометрію показали, що у 13-15 % пацієнток відмічається збереження товщини матки у місці рубцевої тканини після КР при стоншенні його основного шару міометрію. Дослідження в цьому напрямку доводять, що товщина стінки нижнього сегменту матки достовірно нижча у жінок, що перенесли КР, ніж у жінок з неоперованою маткою.

Важливими є результати досліджень щодо визначення товщини нижнього сегменту матки як одного з основних ехографічних маркерів [35]. За

даними цих досліджень товщина нижнього сегменту в 16-19 тиж складає 10,8 мм, в 28-31 тиж – мм, після 35 тиж – від 3 мм при «неповноцінному» рубці до 5,2 мм – при «повноцінному».

Результати з інших наукових досліджень з використанням ультразвукового трансабдомінального доступу дозволили встановити, що товщина стінки нижнього сегменту матки у місці рубця від 2 мм або менше є потенційно загрозливим симптомом для можливості розриву матки при вагітності [28, 36, 39].

Проведене ж трансвагінальне УЗД РМ [11, 1, 31] показало, що потоншення товщини стінки нижнього сегменту матки у місці рубця менше ніж 2 мм у 4 % жінок мали неповний розрив матки, який був діагностований тільки під час повторного КР. Інші дослідники [21, 34-35] вважають, що мінімальна товщина нижнього сегменту матки, яку не слід вважати загрозливою, становить 1 мм, але при цьому при УЗД слід враховувати сонографічні властивості, рухомість, еластичність, наявність дефектів тканини РМ.

Ультразвукові дослідження стану рубця після КР дозволили з'ясувати, що частота клініко-ехографічних ознак неспроможності РМ складає 33 %, однак під час операції це підтвердилося тільки у 1 %, при цьому інформативність цих ознак становила лише 50 % [18, 23], що може свідчити про наявність резервів підвищення частоти самостійного розродження цих жінок.

Слід зазначити, що на думку більшості авторів, і трансабдомінальне і трансвагінальне УЗД може визначити дефект матки після КР та надати інформацію для передбачення розриву [21, 23, 34-35]. Проте на сьогодні за допомогою УЗД не можливо отримати дані, які могли б достовірно передбачити розрив матки по рубцю оцінюючи стан рубця після КР.

На нашу думку, цікавими дослідженнями щодо ехографічної оцінки спроможності РМ були такі, що визначили оптимальний строк для проведення УЗД, нормальний стан зони поперечного розрізу матки і ехографічні ознаки неспроможності нижнього сегменту матки [9, 15]. Так за даними цих досліджень — оптимальним строком проведення УЗД є 28-36-ий тиждень вагітності. А для нормального стану зони поперечного розрізу матки є такі ознаки: V-подібна форма його при товщині не менше 3-5 мм; нормальна ехогенність нижнього сегменту, подібна тій, що в інших відділах матки; локальні ділянки зниженої ультразвукопровідності на фоні нормальної акустичної щільності, що свідчить про спроможність РМ після попереднього КР. В разі коли виявляються ознаки неспроможності нижнього сегменту матки з'являються: балоноподібна або конусовидна форма нижнього сегменту матки; товщина менше 3 мм; симптом «ніші», який визначається в II, на початку III-го триместру вагітності; локальні стоншення нижнього сегменту на тлі нормальної товщини

(понад 3,5 мм); висока акустична щільність по всій довжині РМ.

Останні дослідження доводять, що важливим критерієм стану рубця на матці після КР є його ультразвукова оцінка в післяопераційному періоді [1, 4,]. Зокрема, підвищення ехогенності ділянок РМ після КР, особливо у місцях знаходження шовного матеріалу може свідчити про накопичення ниток фібрину, що також може супроводжуватися збільшенням розмірів рубця, а також за рахунок накопичення в ньому інфільтрату. В деяких випадках до локального запального процесу в ділянці шва додається утворення гематом в ділянці рлісавесісouterіна та поява набряку міометрію в нижньому сегменті матки. У тих випадках, коли спостерігається деформація РМ та з'являється порожнина у міометрії в ділянці РМ під час УЗД в післяопераційному періоді, можна передбачувати розвиток неспроможності післяопераційного рубця.

Важливим методом оцінки неспроможності РМ після КР є проведення УЗД з доплерометрією. Проведення доплерівського дослідження матки під час вагітності дозволяє виявити порушення кровообігу уздовж всього її нижнього сегмента, що може створити передумови для аномалій скоротливої діяльності, розбалансування регуляторних механізмів забезпечення пологів [10, 16].

За даними досліджень, під час проведення доплерометрії у вагітних з РМ, зміни доплерометричних показників в правій і лівій маткових артеріях відмічаються вже в терміні вагітності 22 тижнів [12, 23]. Такі ж зміни у судинах вагітних відмічались у терміні 28-34 тижні та в терміні вагітності 35 і більше, та характеризувалися зменшенням показників систоло-діастолічного відношення, індексу резистентності та пульсаційного індексу [12, 23].

Зміна доплерометричних показників в маткових артеріях може бути з одного боку змінами в кровопостачанні, викликаними оперативними втручаннями на матці, та з іншого як доклінічні прояви подальших змін в судинах плода. Зокрема в терміні вагітності 35 і більше відбувається зміна доплерометричних показників в артеріях пуповини та в середньо-мозковій артерії плода [18, 19].

Сучасна апаратура для ультразвукової діагностики надає додаткові можливості щодо пошуку нових критеріїв визначення стану рубця після КР. Зокрема використання в персональних комп'ютерах потужних обчислювальних систем, здатних до обробки двовимірної інформації та новітня тривимірна реконструкція зображення. Ультразвукове зображення покращився завдяки використанню цифровим технологіям. В сучасних умовах є можливість використовувати для діагностики кольорове доплерівське картування та енергетичний доплер з використанням контрастних агентів, що дозволяє реєструвати кровотік в судинах з діаметром менше 1 мм і більш детально оцінювати перфузію тканин.

Застосування нових методик і контрастного підсилення розширює можливості УЗД. Використання 3D- і 4D-УЗД в комбінації з біконтрастною ехогістерографією, за даними авторів, дозволяє виявити у 60 % жінок з РМ після КР «глибокі ніші», величина яких сягає 80 % товщі міометрію [15, 18].

Зважаючи на різні результати проведених УЗД та різні оцінки неспроможності післяопераційного РМ, саме тому ультразвукова оцінка стану рубця після КР потребує подальшого удосконалення і оптимізації.

Важливими для діагностики стану післяопераційного рубця у жінок після КР є методи, які можна застосувати до настання наступної вагітності. Серед цих методів найбільш інформативними є гістеросальпінгографія (далі — ГСГ) та гістероскопія. ГСГ як рентгенологічний метод дозволяє визначити грубі анатомічні дефекти матки, оцінити її поверхню (передусім перешийок), вивчити зміни внутрішньої поверхні післяопераційного РМ, наявність деформацій його стінки, визначати положення матки і форму її порожнини.

Слід зазначити, що на думку дослідників [1, 32], навіть при відсутності рентгенологічних ознак, РМ може виявитися неповноцінним через переважання в ньому елементів сполучної тканини. Використовувати ГСГ доцільно не раніше, ніж через 6 місяців після КР. Діагностичні можливості цього методу є актуальними і в більш пізні терміни, так як зміни, що відбулися в рубці, залишаються стійкими і можуть виявлятися, навіть через 5 та більше років [32]. При цьому ознаками, що вказують на неповноцінність післяопераційного РМ при ГСГ є: різке зміщення матки, фіксація її до передньої черевної стінки, зміни контурів матки, витончення та/або стоншення її передньої стінки, утворення заглиблень в товщі міометрію, дефекти наповнення, нерівність контурів РМ у вигляді «ніш», «шпор», «мішків» тощо.

Гістероскопічне дослідження у жінок з РМ має високу діагностичну цінність щодо визначення стану РМ за рахунок візуалізації внутрішнього контуру матки. Проведення гістероскопії може прицільно виявити зміни м'язового або сполучнотканинного компоненту. За даними дослідників [20, 22], для діагностики стану післяопераційного рубця гістероскопію доцільно проводити вже через 8-12 місяців після операції КР, але в декотрих випадках вона проводиться і в післяопераційному періоді. При гістероскопії рубець можна вважати морфологічно повноцінним, якщо елементи сполучної тканини не виявляються. Такі результати гістероскопії дозволяють з більшою ймовірністю припустити, що протікання наступної вагітності буде задовільним, а пологи за відсутності інших показань до КР, можна провести консервативно [36, 39].

Гістероскопічні дослідження, за даними авторів [19], дозволяють виділити п'ять видів патологічних змін РМ: випрямлення рубця

(утворення кутів та асиметрій), наявність заглиблень та випирань, вдавнення частини або всього рубця, зміна кольору над рубцем майже до білого кольору, поєднання різних змін. Згідно інших досліджень [26, 35], гістероскопія дозволила визначити в проекції рубця після КР зміни слизової оболонки у 0 % випадків, дефекти у вигляді «ніші» в нижньому сегменті матки — у 55 %, у 10 % — виявлені так звані тонкі рубці, у 10 % — товсті рубці, прояви локальної залозистої гіперплазії було виявлено у 15 % обстежених жінок, у 40 % обстежених жінок був встановлений діагноз хронічного ендометриту, у 10 % — аденоміозу та у 25 % — гіперпластичного процесу ендометрію (поліпоз ендометрію).

Деякі автори вважають доцільним використання біконтрастної ехоскопії та гістероскопії вже в ранньому післяопераційному періоді для ранньої діагностики неспроможності післяопераційного рубця у жінок, що перенесли КР [1, 9, 23-24]. Такі дослідження дозволяють визначити не тільки умови, у яких відбуваються процеси регенерації рубця, але і ранні ознаки порушення цих процесів.

Дослідження, що мали на меті визначення ефективності ультразвукового та гістероскопічного дослідження були проведені через 6 місяців після операції КР і показали, що патологічні зміни в рубці виявляються при ультразвуковому скануванні значно рідше, ніж при гістероскопії відповідно у 56 % і 85 % випадків відповідно, а наявність активного спайкового процесу в післяопераційну періоді є фактором ризику неспроможності рубця в пізній період репарації [19].

Таким чином, гістероскопічні дослідження у жінок з РМ мають високу діагностичну цінність в оцінці стану РМ після КР за рахунок візуалізації внутрішнього контуру матки. Метод дозволяє об'єктивно виявити дефекти ендометрію в проекції рубця. Гістероскопія в діагностиці гіперпластичних процесів ендометрію є найбільш результативною.

В сучасних умовах є можливість додаткової діагностики стану рубця після КР за допомогою МРТ. Даний метод діагностики використовується з цією метою достатньо рідко, але проведені дослідження в цьому напрямку показали, що достовірність результатів ехографічної оцінки спроможності рубця на матці становить понад %, а МРТ — лише 60 % [15, 16].

Особливого значення МРТ-діагностика набуває при спонтанних розривах матки через наявність неспроможного післяопераційного рубця. Не зважаючи на те, що в таких випадках трансвагінальне УЗД дає майже вичерпну інформацію при подібних станах, окремі автори вказують на доцільність проведення МРТ [15, 16]. Спонтанний розрив матки після класичного КР найчастіше виникає на 15-му тижні вагітності. У пізніх термінах розрив має бути ретельно відиференційований від інших ургентних станів вагітної [1, 30]. В літературі також описані випадки недіагностованого розриву матки з наступним

виходом плідного яйця в черевну порожнину, імплантацією та розвитком до 32-го тижня. Діагноз було підтверджено при МРТ, а діагноз за даними УЗД був помилковим [13].

Для розуміння процесів загоєння післяопераційного рубця та утворення спроможного або неспроможного рубця після КР, деякі дослідники проводили морфологічні дослідження [36, 40]. Результати проведених морфологічних досліджень дозволили визначити стан рубця і зробили заключення, що в більшості випадків понад 0 % існує можливість розширення показань до розродження жінок з РМ після попереднього КР через природні пологові шляхи [34].

У процесі загоєння стінки матки після КР активну участь приймають цитокіни та фактори росту, а саме: основний фактор росту фібробластів, трансформівний β -фактор росту, епідермальний фактор росту та інші в процесі макрофагально-фібробластичні та колаген-фібробластичні взаємодії. Завдяки цим взаємодіям відбувається взаємозв'язок між такими процесами, як продукція та розпад колагену [2, 29]. Дослідження в цьому напрямку довели, що чим тяжчий ступінь порушення мікроциркуляції, тим тяжчі порушення процесів транскapілярного обміну та оксигенації тканин в ділянці розрізу матки, тим гірше відбувається процес репарації [22].

За даними багатьох досліджень, на процес репарації рубцевої тканини впливає низка факторів як до пологів, так і після операції до яких відносять: наявність хронічних вогнищ інфекції; порушений преморбідний стан жінки; тривалість пологів та оперативного втручання; об'єм крововтрати та адекватність відновлення крововтрати, особливо у разі великого об'єму крововтрати; спосіб розрізу на матці, спосіб ушивання та шовний матеріал; особливості перебігу післяопераційного періоду [2, 5, 11, 25].

Дослідження стану післяопераційних рубців після КР на передній черевній стінці показало, що патологічне загоювання післяопераційного рубця шкіри проявляє себе у вигляді надмірної клітинної проліферації тканин шкіри та грубоволокнистої сполучної тканин, що призводить до формування щільних пухлиноподібних утворень на поверхні шкіри, а саме келоїдних рубців. Порушення процесів загоювання післяопераційної рани, яке пов'язане з порушенням вироблення та виділення колагену можливе не тільки в бік надлишкового виділення колагену, але й у бік зменшення його виділення [2, 5, 11, 17].

Клінічне обстеження вагітної з РМ включає повний об'єм акушерського обстеження, передбачуваної маси плода, пальпаторне обстеження рубця на передній черевній стінці та «нижнього сегменту» матки. При цьому, про неповноцінність РМ свідчать такі ознаки: періодичні болі, які виникають в ділянці рубця, особливо якщо вони пов'язані з пальпацією цієї ділянки або рухами плода, фізичним

навантаженням, іноді пальпаторно можуть виявляється витончення, заглибленість та деформації передньої стінки матки, а при бімануальному дослідженні виявлені різні зміщення матки вгору і вбік, фіксація до передньої черевної стінки [5, 14, 20, 27].

Більшість досліджень присвячених аналізу перебігу вагітності у жінок з РМ після попереднього КР вказують на те, що основними ускладненнями вагітності у таких жінок є загроза переривання вагітності у першому та другому триместрі вагітності, загроза передчасних пологів та порушений стан плода, яких проявляється у вигляді гіпоксії [5, 27]. Часто у таких вагітних симптоми загрози передчасних пологів можуть бути перші ознаки неповноцінності РМ.

На сьогодні провідними вченими визнано, що найбільш ефективним методом профілактики захворювань, патологічних процесів та різних ускладнень є розробка методів прогнозування та моделювання цих станів [5, 27]. Такі дослідження були проведені щодо прогнозу повноцінності загоснені рани на матці за гістологічними ознаками [5,24]. В результаті був розроблений морфологічний індекс (МІ), який включає 4 критерії: наявність периваскулярної лейкоцитарної інфільтрації, ступінь набряку тканин, розвиток капілярної сітки, ступінь проліферації ендотелію капілярів [1].

В сучасній літературі представлені дані що

В сучасній літературі представлені дані щодо питань прогнозування імовірності виникнення неповноцінного гістеротомного рубця після КР [7,29]. Автори розробили алгоритм і математичну модель прогнозування даної патології. Він визначив і розподілив за п'ятибальною шкалою, яка включає провідні чинники ризику формування неповноцінного РМ після КР. До них відносяться: запальні захворювання геніталій – 3 бали, гістерографія кетгуттом – 3 бали, гістерографія вузловими швами – 1 бал, формування неповноцінного рубця за даними ехографії – 5 балів, субінволюція оперованої матки за даними динамічного УЗД – 3 бали, діагностичні та лікувальні втручання на матці до і під час вагітності – 2 бали. За сумою балів відповідно виділено три стадії прогнозу: низький ступінь ризику – 4 бали; середній ступінь ризику – 5-8 балів; високий ступінь ризику – 9-1 балів.

Результати багатофакторного прогнозування проведеного іншими дослідниками [3, 4] дозволяють за допомогою розроблених формул алгоритмів прогнозування передбачити можливість розродження шляхом вагінальних пологів та шляхом операції КР вагітних за наявності акушерської патології та обтяженого репродуктивного анамнезу, зокрема жінок з РМ після КР.

Таким чином, представлені дані літератури, які висвітлюють проблему рубця після КР в сучасних умовах показують, що накопичена інформація щодо стану РМ у жінок, що перенесли КР,

особливостей перебігу у них вагітності, пологів та стан новонароджених, сучасних діагностичних можливостей визначення неспроможності РМ після КР та тактики ведення пологів є важливою, але в де в чому неповною і суперечливою. Особливої уваги потребує оптимізація діагностики та прогнозування неспроможності післяопераційного РМ, розробки методів спостереження та при необхідності лікування таких жінок на прегравідарному етапі.

Список використаної літератури:

1. Белоусов М.А. Двойное контрастирование при УЗИ исследовании области шва на матке после операции кесарева сечения / М.А. Белоусов, Л.С. Мареева, Р.Ф. Серова // Акушерство и гинекология. – 2011. – №11. – С. 36-39.
2. Вакалюк Л.М. Профілактика акушерсько-перинатальних ускладнень у вагітних з рубцем на матці / Л.М. Вакалюк, І. І. Гудивок, С.С. Стоцький, В.О. Любінець // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. - 2012. - № 1. - С. 6-0.
3. Гончарук Н.П. Шляхи зниження частоти кесаревих розтинів при акушерській патології та обтяженому репродуктивному анамнезі. Дис. на здобування наук. ступеня д-ра мед. наук / Гончарук Н.П. – К., 2019. –352 с.
4. Залесный А.В. Комплексная оценка состояния рубца на матке после кесарева сечения / Залесный А.В. //Журнал акушерства и женских болезней, LIX (5). – 2010. – С. 118-126.
5. Керівництво Королівського коледжу акушерів і гінекологів Великобританії «Пологи після кесаревого розтину в анамнезі».–Жіночий лікар. – No 6(4).–201.– С.62-4.
6. Корсак В.В. Особливості розродження жінок з рубцем на матці після попереднього кесаревого розтину / Пацкань І.І., Мойш А.Ю., В.В. Корсак, // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16. – No 2, ч. 1 (62). – С.100-103.
7. Краснопольский В.И. Несостоятельный рубец на матке после кесарева сечения: причины формирования и лечебная тактика /В.И. Краснопольский, Л.С. Логутова, С.Н. Буянова // Акушерство и гинекология. – 2013. - No 12. – С. 28-33.
8. Кузьмина Т.Е. Прегравидарная подготовка. Современные концепции. / Кузьмина Т.Е., Пашков В.М. and Клиндухов И.А. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии - № 14 (5) - 2015. –С. 4-54.
9. Кулинич С.И. Роль гистероскопии в оценке заживления швов после операции кесарева сечения / С.И. Кулинич, В.А. Крамарский, В.Н. Дудакова // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии. – 2011-2012. – Т. 1, № 1. – С. 42-43.
10. Нежданов И.Г. Некоторые аспекты разрыва матки по рубцу после операции кесарева сечения / И.Г. Нежданов, Р.В. Павлов, В.А. Аксененко, И.В. Телегина // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2012. – № 2. – С. 82–83.

11. Щукина Н.А. Причины формирования и методы профилактики несостоятельного рубца на матке после кесарева сечения / Н.А. Щукина, Е.И. Благина, И. В. Барина // Альманах клинической медицины. – 2015. – No 3. – С. 85-92.
12. Basic E. Ultrasound evaluation of uterine scar after Cesarean section and next birth / E. Basic, V. Basic Cetkovic, H. Kozaric, A. Rama // Medicinski Arhiv. – 2012. – Vol. 66, No. 3. – P. 41–44.
13. Bij de Vaate AJ, Brolmann HA, van der Voet LF, et al. Ultrasound evaluation of the cesarean scar: relation between a niche and postmenstrual spotting. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;3:93–99.
14. Blomberg M. Avoiding the first cesarean section – results of structured organizational and cultural changes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016 May; 95(5):580–6.
15. Bom N. Principles, Recent Advances and Future Prospects of 3-D Echo Imaging Techniques / N. Bom // European Congress of Radiology. – Vienna, 200. – Vol. 1. – P. 5.
16. Brunn J., Block U., Ruf G., Bos I., Kunze W.P., & Scriba P.C. (2008). Volumetrie der Schilddrüsenlappenmittels Real-time-Sonographie* 1. DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift, 106(41), 1338–1340. doi:10.1055/s-2008-100506.
17. Chapman S.J. One-versus two-layer closure of a low transverse cesarean: the next pregnancy / S.J. Chapman, J. Owen, J.C. Hauth // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 89 (1). – P. 16-18.
18. Cheung V.Y. 2D versus 3D transabdominal sonography for the measurement of lower uterine segment thickness in women with previous cesarean delivery / V.Y. Cheung, F. Yang, K.Y. Leung [et al.] // *International Journal of Gynaecology and Obstetrics.* – 2011. – Vol. 114, No. 3. – P. 234–23.
19. Dashow E.E. Randomized comparison of five irrigations at cesarean section / E.E. Dashow, T.A. Read, F.H. Coleman // *Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 68 (4). – P. 43-48.
20. Dodd J.M., Crowther C.A., Huertas E., Guise J.M., Horey D. Planned elective repeat cesarean section versus planned vaginal birth for women with a previous cesarean birth. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013; (12): CD004224.
21. Dosedla E, Calda P. Can the final sonographic assessment of the cesarean section scar be predicted 6 weeks after the operation? *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2016 Oct; 55(5):18–20.
22. Erickson S.S. Intermenstrual bleeding secondary to cesarean scar diverticula report of three cases / S.S. Erickson, B.J. Van Voorhis // *Obstet Gynecol.* – 2009. – Vol. 93 (5). – P. 802-805.
23. Gallardo E.A. Correlation between highresolution ultrasound and microscopic anatomy in the evaluation of the biceps tendon disorders / Gallardo E.A., Barber I.M., Serrano A. [et al.] // *European Congress of Radiology – Vienna, Austria, 2010.* – P. 210.
24. Larson B. Prevention of postoperative formation and reformation of pelvic adhesions / B. Larson // *Pertitoneal adhesions / Ed. By K. N. Treatner, V. Schumpelick.* – Berlin : Springer, 2011. – P. 331-334.
25. Maneschi F, Biccirè D, Santangelo G, Perrone S, Scaini A, Cosentino C. Implementation of the Four–Category Classification of Cesarean Section Urgency in Clinical Practice. A Prospective Study. *Gynecol Obstet Invest.* 2016 Sep 30.: 220–28.
26. Mekiňová L, Janků P, Filipinská E, Kadlecová J, Ventruba P. Cesarean section incidence and vaginal birth success rate at term pregnancy after myomectomy. *Ceska Gynekol.* 2016 Winter; 81(6):404–410.
27. National Institute for Health and Clinical Excellence. Cesarean section. NICE clinical guideline; 2011. 5 p.
28. Offermann H, Gebauer C, Pulzer F, Bläser A, Thome U, Knüpfer M. Cesarean section increases the risk of respiratory adaptive disorders in healthy late preterm and two groups of mature newborns. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2015 Dec; 219(6):259–65.
29. Papatheodorou A. Ultrasound: Frequently asked questions, tips and protocols / A. Papatheodorou, F. Takis, S. Lyra // *European Congress of Radiology.* – Vienna, Austria, 2012. – P. 400.
30. Parant O. Uterine rupture: prediction, diagnosis et management. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 2012; 41(8): 803–16.
31. Pearson G.A., Eckford S.D. Quantification of risk of emergency caesarean during labour after one previous caesarean section. *J. Obstet. Gynaecol.* 2013; 33():692–4.
32. Perrot N. Sonohysterography: a new study method of the uterine cavity: evaluation of 84 cases and comparison to hysteroscopy / N. Perrot, I. Frey, J.L. Mergui // *Contracept Fertil Sex.* – 200. – Vol. 25 (4). – P. 325-329.
33. Rauburn W.F. Refinements in performing a Cesarean Delivery / W.F. Rauburn, W.J. Schwartz // *Obstet. Gynecol. Survey.* – 2012. – Vol. 51 (). – P. 445-451.
34. Revicky V., Muralidhar A., Mukhopadhyay S., Mahmood T.A. Case series of uterine rupture: lessons to be learned for future clinical practice. *J. Obstet. Gynecol. India.* 2012; 62(6): 665–3.
35. Risager J.K., Ulbjerg N. & Glavind J. Cesarean scar thickness in non-pregnant women as a risk factor for uterine rupture. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine,* 1–6, 2020. doi:10.1080/146058.2020.119065.
36. Roeder, H.A., Cramer, S.F., & Leppert, P.C. A Look at Uterine Wound Healing Through a Histopathological Study of Uterine Scars. *Reproductive Sciences,* 19(5), 463–43, 2012. doi:10.11193319111426603.
37. Scott J.R. Intrapartum management of trial of labour after caesarean delivery: evidence and experience. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 2014; 121(2): 15–62.
38. Sentilhes L., Vayssière C., Beucher G., Deneux–Tharoux C., Deruelle P., Diemunsch P. et al. Delivery for women with a previous cesarean: guidelines for clinical practice from the French College

of Gynecologists and Obstetricians (CNGOF). Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2013; 10(1): 25–32.

39. Smith G.C. Factors predisposing to perinatal death related to uterine rupture during attempted vaginal birth after caesarean section: retrospective cohort study / G.C. S. Smith, J.P. Pell, D. Pasupathy, R. Dobbie // *BMJ*. – 2004. – Vol. 329. – P. 353.

40. Thornton P, McFarlin BL, Park C, Rankin K, Schorn M, Stapleton S. Cesarean Outcomes in US Birth Centers and Collaborating Hospitals: A Cohort Comparison. *J Midwifery Womens Health*. 2016 Dec. : 6–69.

Kaniowska L.V.

Candidate of Medical Science (PhD), assistant professor, Department of the Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Higher State Educational Institution of Ukraine “Bukovinian State Medical University”

Liakhovych O.D.

assistant, Department of the Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Higher State Educational Institution of Ukraine “Bukovinian State Medical University”

APPLICATION OF CLINICAL SITUATIONAL PROBLEMS IN THE STUDY OF ELECTIVE COURSE "AGE ASPECTS OF PHARMACOTHERAPY" BY STUDENTS

Аннотация. One of the useful components of training of future doctors during the learning of the elective course "Age aspects of pharmacotherapy" is the development of clinical thinking - the ability to transform the acquired knowledge into the ability to apply them in practice. The experience of application of situational tasks in teaching students of the elective course "Age aspects of pharmacotherapy" is presented. The role of these tasks in encouraging students to study the subject and develop clinical thinking is shown.

Key words: situational tasks, pharmacotherapy, age aspects, clinical thinking.

Topicality. The formation of professional competence in students is a complex process that includes many components. The purpose of higher education is to train highly educated and competitive professionals based on the formation of their knowledge, skills, abilities, as well as the activation of intellectual, moral, creative, and physical development of the individual. The use of simulation technologies is designed to increase the efficiency of the educational process, the level of professionalism, and practical skills of medical workers, providing them with the most effective and safe transition to medical activities in real-life conditions.

Aim. To consider the development of clinical thinking based on the application of situational clinical problems in practical classes.

Main part. An elective course "Age aspects of pharmacotherapy" as a subject aimed to train specialists who have sufficient theoretical knowledge and practical skills to conduct the most rational drug therapy for a patient taking into account his age characteristics. They also should be aware of methodology for selecting the most effective and safe drugs and their combinations, taking considering the individual characteristics of the organism, the course and the form of the disease, the presence of concomitant pathology based on the principles of evidence-based medicine [1-2].

Pharmacotherapy is an integrated concept that defines a set of treatments based on the use of drugs as well as the science of rational treatment of the patient (disease) with drugs. This integrated field of medicine is based on the achievements of theoretical and

experimental pharmacology, clinical pharmacology, a number of clinical disciplines that are closely related to pharmacotherapy. An integral part of rational pharmacotherapy is the acquisition of evidence-based medicine, the availability of clinical guidelines (recommendations, protocols) for the provision of medical care for certain diseases [3].

The ultimate goals of the discipline are set based on educational and qualification characteristics as well as on educational and professional training of doctors in the specialty and are the foundation stone for building the content of the discipline, namely: the formation of a holistic system of theoretical foundations of age aspects of pharmacotherapy; ability to make a pharmacotherapy plan taking into account the age, sex of the patient, stage, phase, course, the severity of the disease, the presence of complications and comorbidities. As a result of studying this discipline the student should know:

- modern terminology on pharmacotherapy;
- be able to interpret the results of the patient's examination to justify the choice of drugs for rational pharmacotherapy;
- be able to use knowledge about pharmacological effects, mechanism of action, pharmacokinetics of drugs, principles of their dosage, indications and contraindications to ensure individualized effective and safe pharmacotherapy;
- to acquire skills of elaboration of a plan of rational pharmacotherapy of a particular patient based on the principles of evidence-based medicine and the possibility of implementing the Formulary system in terms of a specific treatment facility to prescribe drugs

that are optimal in effectiveness, safety and affordable or available in a treatment facility [2].

Professional training of a highly qualified specialist during study, in particular, when choosing elective courses, is aimed not only at the accumulation of theoretical knowledge, but also at the formation of clinical thinking and the ability to make informed decisions under stress in a short space of time, which will increase competitiveness at the modern labor market. Classical forms of organization of the educational process give students the opportunity to accumulate theoretical knowledge, which, unfortunately, in the future, as experience shows, they cannot use in real conditions when interacting with the patient. That is why the accumulation of theoretical knowledge without practicing practical skills loses sense in the training of young professionals. This problem can be solved only by the introduction of interactive methods in the educational process, which allows modeling clinical situations. Due to the different levels of motivation and theoretical knowledge background of students, there is a need for a differential approach to the choice of teaching methods at the university [5].

One of the necessary components of training future doctors during the course "Age aspects of pharmacotherapy" is the development of clinical thinking, namely, the ability to transform the acquired knowledge into the ability to apply them in practice, and especially in emergency care. It is generally accepted that this ability should be developed in the senior courses "at the patient's bedside" during practice. The solution of situational problems of pharmacotherapy in the classroom with 5th-year students not frequently used since commonly believed that they accumulate knowledge, as well as become familiar with a variety of concepts, definitions, and pathological conditions. Our experience with the use of situational tasks in practical classes shows the opposite, e.i., the earlier you apply situational tasks, the faster future doctors develop elements of clinical thinking. At the same time, when it is the 5th year taken, it is more effective to solve problems on the topic under study. In our opinion, this is more productive than instructing a student to supervise a patient with many associated pathological conditions and their complications. The curation of the patient in a practical lesson is acceptable for students during practical training in internal medicine and practice [6].

The basis for situational tasks in pharmacotherapy are tasks on the following topics: pharmacotherapy in pulmonology, cardiology, gastroenterology, rheumatology and nephrology. In the situational task, you can program all the information that the student must learn on the topic being studied, or passed the sections of the curriculum. Solving situational tasks creates conditions for the active development of flexible, variable skills of professional thinking that are the most necessary components of the modern specialist's model. The generalized properties of problems are the following: the presence of some elements of complication in problem specification,

atypicality, non-standard situations; real-life setting problems in medical practice; possible problem nature, and interdisciplinary context of tasks. It is established that the quality of training of the future doctor is largely determined by the saturation, regularity, activity of training in solving non-standard, atypical problems of III level. Forms of setting these tasks, as mentioned above, can be varied: the most justified is task statement on a real patient, non-equivalent replacement of the patient can be medical history, sets of clinical and laboratory data, text task, business games, and more. The options for constructing atypical situational issues with various elements of complications are taken from modern medical practice and reflect a wide range of real-life problems of the specialist, for which he must be ready to solve [4].

The situational tasks in pharmacotherapy, created for each of the topics, are related to different sections of disease diagnosis, their syndromic management, clinical pharmacology of drugs of different pharmacological groups, are solved by students at the final stage of the lesson [8].

Solving situational problems allows the student to identify characteristic clinical symptoms and syndromes of the most common diseases, apply the most rational drug therapy in a particular patient based on evidence-based medicine, choose the most effective and safe drugs, adequate dosage form and dosage regimen, interpret and take into account the features of clinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, side effects and interaction of the main groups of drugs, considering the individual characteristics of the organism, the course and form of the disease, the presence of concomitant pathology in the clinical practice [7].

When solving atypical problems, students have the opportunity to master the skills of selecting the best drug for a patient, learn how to apply in practice the algorithm of treatment of some categories of patients (elderly, children, pregnant women) which require special attention from doctors, since the risk of side effects of drugs is much higher and the health consequences can be more severe than for an "average" patient [6].

We emphasize once again that the elements of complexity, atypicality, which are the basis of the tasks, are taken from real situations of medical practice, which makes it possible to bring the educational process as close as possible to the real-life conditions of professional activity. The less idealization and simplification in educational tasks, the more significant they become in the professional context, and the in its turn the higher their level of problem, interdisciplinarity and effectiveness in the development of professional skills and clinical thinking of future professionals. Regarding the level of difficulty of educational tasks, it should be noted that it is largely defined by the complexity and number of unresolved professional problems included in the context of the content of the learning activity [10].

In educational tasks, especially text, as a rule, the principal part of these problems is removed by the

problem situation itself. For example, in educational test tasks the anamnesis data, clinical data, results of laboratory, instrumental researches, dynamics of a course of a disease, etc., as a general guide, are set in a condition (search is not required). Only part of the problem remains to be solved on its own: to determine the symptoms, syndromes of the disease, to develop an algorithm for further tactics of patient management: requires immediate first aid, doctor's consultation or possible self-medication, prescription of over-the-counter drugs, rational drug therapy [9].

The technology of solving professional problems in their problem statement requires the teacher to prepare a set of data that must be inquired by the student in the process of solving it, to clarify the history, the results of clinical, laboratory examinations, etc. Summarizing the above, we emphasize that the level of problem of the problem is determined not only by the number of issues contained in its context but also, of course, the level of their complexity and non-standard solutions. Only through thoughtful compilation and review can misunderstandings that arise in the actual application of situational tasks in learning and knowledge control [12].

It is no coincidence that 95% of students surveyed indicate that solving situational problems arises interest, awakens activity to classes, makes them discuss and allows them to better remember the material. It is known that with the development of interest in the discipline, all the psychological functions of the student are activated: memory, attention, thinking and more [11].

Conclusions. Applying situational tasks to control knowledge was more productive than traditional surveys and tests. The interview with students was more meaningful, as it was conducted in a specific clinical situation, instilled skills and abilities to apply the acquired knowledge in practice.

The use of atypical situational tasks makes it possible to intensify the educational process in the study of the discipline "Age aspects of pharmacotherapy" and to organize quality educational activities for students.

References

1. Kokovs'ka OV, Mischenko IV, Pavlenko HP, Yudina KIe. Pidvyschennia efektyvnosti lektzii yak aktual'na problema suchasnoi vyschoi medychnoi osvity v Ukraini [Improving the efficiency of lectures as an urgent problem of modern higher medical education in Ukraine]. V: Materialy navch.-nauk. konf. z mizhnar. uchastiu Aktual'ni problemy suchasnoi vyschoi medychnoi osvity v Ukraini; 2019 Ber 21; Poltava. Poltava; 2019, p. 109-11. (in Ukrainian)

2. Kupnovytska IH, Klymenko VI, Fitkovska IP, Belehay RI, Hubina NV, Danylyuk OI, ta in. Optyimizatsiia navchannia maibutnikh provizoriv shliakhom rozv'iazannia netyypovykh sytuatsiinykh zadach z dystsypliny «Klinichna farmatsiia» [Optimization of pharmacists training by solving not typical situational tasks in "Clinical pharmacy"

discipline]. Prykarpats'kyi visnyk NTSh Pul's. 2015;4:85-9. (in Ukrainian)

3. Zhurakivska OYa. Netradytsiini formy lektzii, yak zasib pidvyschennia efektyvnosti navchannia studentiv u vyschykh medychnykh zakladakh [Nontraditional Forms of Lectures as a Means of Improving the Effectiveness of Teaching Students in Higher Medical Institutions]. Bulletin of Problems in Biology and Medicine. 2015;1(2):88-90. (in Ukrainian)

4. Kazakov VM, Vitenko VS, Talalaienko OM, Kamenets'kyi MS, Pervak MB, Kotlubiei OV. Vyznachennia ta zabezpechennia tsilei navchannia u medychnykh vyschykh navchal'nykh zakladakh vidpovidno do chynnykh derzhavnykh standartiv ta pryntsyviv Bolons'koho protsesu [Defining and ensuring the goals of education in medical higher education institutions in accordance with current state standards and principles of the Bologna process]. Donets'k; 2007. 100 p. (in Ukrainian)

5. Milerian VYe. Metodychni osnovy pidhotovky i provedennia navchalnykh zaniat v medychnykh vuzakh [Methodical bases of preparation and carrying out of educational employment in medical high schools]. Kiev: Khreschatyk; 2006. 80 p. (in Ukrainian)

6. Nazarenko NV. Motyvatsiia navchannia studentiv yak pokaznyk efektyvnosti suchasnykh pedahohichnykh tekhnolohii [Motivation of students' learning as an indicator of the effectiveness of modern pedagogical technologies]. Problemy osvity. 2005;45(Ch 1):120-4. (in Ukrainian)

7. Tetenev FF, Bodrova TN, Kalinina OV. Formirovanie i razvitie klinicheskogo myshleniya - vazhneyshaya zadacha meditsinskogo obrazovaniya [Formation and development of clinical thinking is the most important task of medical education]. Uspekhi sovremennogo estestvovoznaniya. 2008;4:63-5. (in Russian)

8. Chekman IS, Horchakova NO. Udoskonalennia vykladannia polozhen' dokazovoi medytsyny pry vyvchenni farmakolohii i klinichnoi farmakolohii [Improving the teaching of evidence-based medicine in the study of pharmacology and clinical pharmacology]. Medychna osvita. 2008;3:73-4. (in Ukrainian)

9. Kulchytskyi VY. Formuvannia profesiohenezu osobystosti studentiv medychnykh vuziv Ukrainy [Formation of professional knowledge of students' personality of medical institutes in Ukraine]. Medychna osvita. 2012;1:36-9. doi: <https://doi.org/10.11603/me.v0i1.1118> (in Ukrainian)

10. Pishak VP, Zakharchuk OI, Kryvchanska MI. Z dosvidu zastosuvannia keis-metodu ta proaktyvnoi prezentatsii pry chytanni lektsiinoho materialu [From experience of case-method application and proactive presentation at reading of lectures]. Medychna osvita. 2013;1:16-20. doi: <https://doi.org/10.11603/me.v0i1.2083> (in Ukrainian)

11. Chernyshova LI, Akuliushyna MO. Interaktyvni metody navchannia yak suchasnyi

napriamok aktyvizatsii piznaval'noi diial'nosti studentiv u vyschykh navchal'nykh zakladakh [Interactive teaching methods as a modern direction of activating the cognitive activity of students in higher educational institutions]. V: Hohunskyi VD, redaktor. Materialy nauk.-metod. seminaru Shliakhy realizatsii kredytno-modulnoi systemy orhanizatsii navchalnoho

protsesu i testovykh form kontroliu znan studentiv; 2013 Kvi 30; Odesa. Odesa: Nauka i tekhnika; 2013, p. 83-8. (in Ukrainian)

12. Maksymenko SD, Filonenko MM. Pedahohika vyschoi medychnoi osvity [Pedagogy of higher medical education]. Kiev: Tsentr uchbovoi literatury; 2014. 288 p. (in Ukrainian)

Fishchenko Volodymyr Olexandrovych

Doctor of Medical Sciences, Professor,

Head of the Department of Traumatology and Orthopedics,

Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University,

Vinnitsia, Ukraine

Mammadov Lachin Ali oglu

postgraduate student

of the Department of Traumatology and Orthopedics,

Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University,

Vinnitsia, Ukraine

EFFICACY OF ADIPOSE DERIVED-MESENCHYMAL STEM CELLS FOR THE TREATMENT OF THE INTRA-ARTICULAR DISTAL FEMORAL FRACTURES

Фіщенко Володимир Олександрович

доктор медичних наук, професор,

завідувач кафедри травматології та ортопедії

Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова

Вінниця, Україна

Маммадов Лачін Алі огли

аспірант кафедри травматології та ортопедії

Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова

Вінниця, Україна

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ОТРИМАНИХ З ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ В ЛІКУВАННІ ВНУТРІШНЬОСУГЛОБОВИХ ПЕРЕЛОМІВ ДИСТАЛЬНОГО ВІДДІЛУ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ

Summary. The aim of this work was to study the effectiveness of intraoperative administration of adipose derived-mesenchymal stem cells during internal fixation of intra-articular distal femoral fractures. We examined 48 patients with intra-articular distal femoral fractures. Patients in the study group (19 (39.58 %)) were additionally injected intraoperatively with adipose derived-mesenchymal stem cells. Patients in the control group (29 (60.42 %)) additional stimulation of chondrogenesis was not performed. Adipose derived-mesenchymal stem cells were obtained using the Lipogems® system according to the recommended method. The results of treatment were evaluated using Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS). Significantly better results were proved in the group of patients who underwent additional intraoperative local administration of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue in the categories "Symptoms" (p=0.02), "Pain" (p=0.03), "Activities of daily living" (p=0.04), "Sport and recreation function" (p=0.0002), "Knee-related quality of life" (p=0.0005). As a result of the study it was possible to establish the high efficiency of intraoperative administration of adipose derived-mesenchymal stem cells during internal fixation of intra-articular distal femoral fracture with acute cartilage damage.

Анотація. Мета проведеної роботи полягала у дослідженні ефективності введення мезенхімальних стовбурових клітин з жирової тканини під час остеометалосинтезу внутрішньосуглобових переломів дистального відділу стегнової кістки. Обстежено 48 пацієнтів з внутрішньосуглобовими переломами дистального відділу стегнової кістки. Пацієнтам досліджуваної групи (19 (39,58 %)) додатково інтраопераційно вводили мезенхімальні стовбурові клітини отримані з жирової тканини. Хворим контрольної групи (29 (60,42 %)) додаткової стимуляції хондрогенезу не проводили. Мезенхімальні стовбурові клітини з жирової тканини отримували з використанням системи Lipogems® згідно рекомендованої методики. Результати лікування оцінювали з допомогою Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS). Доведено достовірно кращі результати у групі хворих, яким проводили додаткове інтраопераційне локальне введення мезенхімальних стовбурових клітин отриманих з жирової тканини за категоріями «Симптоми» (p=0,02), «Біль» (p=0,03), «Функція, повсякденне життя» (p=0,04), «Функція, спорт та активний відпочинок» (p=0,0002), «Якість життя» (p=0,0005). В результаті проведеного дослідження вдалося встановити високу ефективність інтраопераційного введення мезенхімальних

стовбурових клітин отриманих з жирової тканини під час остеометалосинтезу внутрішньосуглобових переломів дистального відділу стегнової кістки з гострим пошкодженням хрящової тканини.

Key words: osteoarthritis, degenerative-dystrophic diseases, mesenchymal stem cells, intra-articular fractures, gonarthrosis.

Ключові слова: остеоартроз, дегенеративно-дистрофічні захворювання, мезенхімальні стовбурові клітини, внутрішньосуглобові переломи, гонартроз.

Постановка проблеми. Остеоартроз є найбільш поширеним захворюванням опорно-рухового апарату людини. Дегенеративно-дистрофічні ураження суглобів є результатом взаємодії механічних та біологічних факторів, які порушують процеси синтезу та деградації в хондроцитах, матриці суглобового хряща та субхондральній кістці. Захворювання має прогресуючий перебіг, призводить до обмежень функціональної спроможності та працездатності, погіршення рівня якості життя та інвалідності хворих [4, 10].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Протягом останніх років, у зв'язку з прогресуючим старінням населення, збільшенням частоти ожиріння реєструється зростання поширеності остеоартрозу, крім того, в найближчий час очікується подвоєння даного показника в два рази [2, 12]. Важливим фактором ризику розвитку остеоартрозу є наявність травми в анамнезі. Частота посттравматичного остеоартрозу, серед усіх випадків симптоматичного дегенеративно-дистрофічного ураження суглобів, становлять майже 10-12 %. Відомо, що у осіб, які перенесли травму коліна гонартроз розвивається у 4,2 рази частіше, ніж у тих, хто не мав травми в анамнезі. Внутрішньосуглобові переломи також суттєво сприяють розвитку посттравматичного остеоартрозу колінного суглоба. За оцінками авторів, посттравматичний остеоартроз виникає у 23-44 % осіб після внутрішньосуглобових переломів кісток колінного суглоба [12].

Сучасним напрямком в лікуванні ранніх стадій остеоартрозу є внутрішньосуглобова клітинна терапія з використанням мезенхімальних стовбурових клітин. Біологічні ефекти мезенхімальних стовбурових клітин обумовлені секрецією молекул, які інгібують апоптоз, спричинений ішемією, та інгібують фіброзоутворення, стимулюють ангиогенез та мітоз внутрішніх попередників тканин [3, 11, 14]. Серед джерел мезенхімальних стовбурових клітин жирова тканина сьогодні вважається найбільш перспективною завдяки своїй великій кількості та доступності, порівняно з іншими джерелами. Крім того, концентрація мезенхімальних стовбурових клітин в жировій тканині більша, ніж в кістковому мозку [5, 6].

В клінічних умовах успішно використовуються мікрофрагментовані ліпоаспірати, приготовані з використанням системи Lipogems®, які збагачені аутологічними стовбуровими клітинами жирової тканини та перицитами [8, 13]. Позитивні ефекти використання доведені в ортопедичній клінічній

практиці при реконструкції зв'язок колінного суглоба та в лікуванні остеоартрозу. В ряді досліджень підтверджено, що застосування системи Lipogems® на початкових стадіях остеоартрозу колінного суглобу веде до зменшення больового синдрому, покращення клінічних та функціональних показників [1, 7, 9]. Крім того, згідно огляду 28 статей та результатів лікування 584 пацієнтів Mcintyre et al. дійшли висновку, що внутрішньосуглобова терапія з використанням мезенхімальних стовбурових клітин є безпечною та супроводжується позитивними клінічними результатами [7].

Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми. Актуальним є використання мезенхімальних стовбурових клітин під час лікування внутрішньосуглобових переломів, що дозволить попередити розвиток посттравматичного остеоартрозу. Однак, свідчення щодо подібного твердження в сучасній літературі обмежені, тому вивчення даного питання є актуальним та перспективним.

Мета дослідження: оцінити ефективність інтраопераційного введення мезенхімальних стовбурових клітин з жирової тканини під час остеометалосинтезу внутрішньосуглобових переломів дистального відділу стегнової кістки з гострим пошкодженням хрящової тканини.

Викладення основного матеріалу. Проаналізовано результати лікування 48 пацієнтів з внутрішньосуглобовими переломами дистального відділу стегнової кістки. Серед обстежених виділено 2 групи. В досліджувану групу включено 19 (39,58 %) пацієнтів, яким додатково під час проведення остеометалосинтезу перелому дистального відділу стегнової кістки вводили мезенхімальні стовбурові клітини виділені з жирової тканини. Пацієнтам контрольної групи додаткової стимуляції хондрогенезу не проводили, до групи включено 29 (60,42 %) хворих. Тип перелому визначали згідно класифікації АО (Müller, 1987). Неповні внутрішньосуглобові типи переломів зафіксовано у 12 (63,16 %) пацієнтів досліджуваної групи та 18 (62,07 %) хворих групи контролю. Повні внутрішньосуглобові типи переломів діагностовано у 7 (36,84 %) хворих досліджуваної групи та 11 (37,93 %) пацієнтів контрольної групи. Мезенхімальні стовбурові клітини отримували з жирової тканини, використовуючи системи Lipogems® згідно рекомендованої методики. Результати лікування оцінювали з допомогою Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS).

За категорією «Симптоми» достовірно кращі результати спостерігали у групі хворих, яким

проводили додаткове інтраопераційне локальне введення мезенхімальних стовбурових клітин отриманих з жирової тканини – 75,19±6,01 балів, порівняно з показниками групи пацієнтів, яким додаткової стимуляції не виконували – 59,85±6,86 балів ($p=0,02$) (табл. 1). У пацієнтів досліджуваної групи шляхом додаткової стимуляції

хондрорепації з використанням мезенхімальних стовбурових клітин з жирової тканини вдалося отримати зростання середніх показників за категорією «Симптоми» на 20,40 % порівняно з результатами самостійного використання хірургічного методу.

Таблиця 1

Оцінка стану колінних суглобів за шкалою KOOS у обстежених хворих з урахуванням запропонованого методу лікування

Характеристика	Групи		p
	досліджувана	контрольна	
Симптоми, балів	75,19±6,01	59,85±6,86	0,02*
Біль, балів	69,01±3,50	53,64±10,84	0,03*
Функція, повсякденне життя, балів	73,22±2,17	56,49±7,60	0,04*
Функція, спорт та активний відпочинок, балів	49,21±7,50	44,31±7,41	0,0002*
Якість життя, балів	53,29±7,90	46,77±9,39	0,0005*

*Примітка. Встановлено достовірну відмінність показників при $p \leq 0,05$.

У групі хворих досліджуваної групи за категорією «Біль» зафіксовано достовірно кращі результати – 69,01±3,50 балів при порівнянні з аналогічними показниками групи контролю – 53,64±10,84 балів ($p=0,03$). У групі пацієнтів, яким під час хірургічного лікування додатково вводили мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з жирової тканини, результати за категорією «Біль» перевищували показники групи контролю на 22,27 %.

Значення за категорією «Функція, повсякденне життя» у пацієнтів досліджуваної групи становило 73,22±2,17 балів, у пацієнтів контрольної групи – 56,49±7,60 балів. При порівнянні отриманих показників з урахуванням запропонованого методу лікування встановлено достовірну відмінність у досліджуваних групах ($p=0,04$). Крім того, у пацієнтів досліджуваної групи вдалося досягнути кращі результати за категорією «Функція, повсякденне життя» на 22,85 %, ніж у контрольній групі хворих.

Достовірно кращі показники фізичної активності за категорією «Функція, спорт та активний відпочинок» спостерігали у групі пацієнтів досліджуваної групи – 49,21±7,50 балів, порівняно з показниками пацієнтів контрольної групи – 44,31±7,41 балів ($p=0,0002$). Шляхом інтраопераційного локального введення мезенхімальних стовбурових клітин, виділених з жирової тканини, вдалося покращити показники пацієнтів досліджуваної групи за категорією «Функція, спорт та активний відпочинок» на 9,96 %, порівняно з показниками хворих групи контролю.

У пацієнтів досліджуваної групи показники якості життя – 53,29±7,90 балів достовірно перевищували аналогічні значення визначені у хворих групи контролю – 46,77±9,39 ($p=0,0005$). Шляхом додаткового введення мезенхімальних стовбурових клітин з жирової тканини вдалося покращити показники за категорією «Якість життя» у пацієнтів досліджуваної групи на 12,23 %, при порівнянні зі значеннями контрольної групи.

Висновки та пропозиції. Таким чином, в результаті проведеного клінічного дослідження вдалося встановити достовірно кращі функціональні результати лікування у пацієнтів з внутрішньосуглобовими переломами дистального відділу стегнової кістки з гострим пошкодженням хряща, яким під час хірургічного втручання застосовували мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з жирової тканини. Доведено, що додаткове застосування мезенхімальних стовбурових клітин з жирової тканини сприяє кращому відновленню хрящової тканини та достовірно кращим функціональним результатам у віддаленому періоді.

Список літератури:

- Новиков, А. В. (2017). Экспериментальное и клиническое использование мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток для стимуляции регенерации суставного хряща. Журнал «Медицина», № 3, 125-144.
- Arshi, A., Petrigliano, F. A., Williams, R. J., & Jones, K. J. (2020). Stem Cell Treatment for Knee Articular Cartilage Defects and Osteoarthritis. *Current reviews in musculoskeletal medicine*, 13(1), 20–27. <https://doi.org/10.1007/s12178-020-09598-z>
- Avila-Portillo, L. M., Aristizabal, F., Riveros, A., Abba, M. C., & Correa, D. (2020). Modulation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cell Transcriptome by G-CSF Stimulation. *Stem cells international*, 2020, 5045124. <https://doi.org/10.1155/2020/5045124>
- Barfod, K. W., & Blønd, L. (2019). Treatment of osteoarthritis with autologous and microfragmented adipose tissue. *Dan Med J.*, 66(10), A5565.
- Bianchi, F., Maioli, M., Leonardi, E., Olivi, E., Pasquinelli, G., Valente, S., ... Ventura, C. (2013). A New Nonenzymatic Method and Device to Obtain a Fat Tissue Derivative Highly Enriched in Pericyte-Like Elements by Mild Mechanical Forces from Human Lipoaspirates. *Cell Transplantation*, 22(11), 2063–2077. doi:10.3727/096368912x657855

6. Ceserani, V., Ferri, A., Berenzi, A., Benetti, A., Ciusani, E., Pascucci, L., Bazzucchi, C., Coccè, V., Bonomi, A., Pessina, A., Ghezzi, E., Zeira, O., Ceccarelli, P., Versari, S., Tremolada, C., & Alessandri, G. (2016). Angiogenic and anti-inflammatory properties of micro-fragmented fat tissue and its derived mesenchymal stromal cells. *Vascular cell*, 8, 3. <https://doi.org/10.1186/s13221-016-0037-3>
7. Dall'Oca, C., Breda, S., Elena, N., Valentini, R., Samaila, E. M., & Magnan, B. (2019). Mesenchymal Stem Cells injection in hip osteoarthritis: preliminary results. *Acta bio-medica : Atenei Parmensis*, 90(1-S), 75–80. <https://doi.org/10.23750/abm.v90i1-S.8084>
8. Garcia-Contreras, M., Messaggio, F., Mendez, A. J., & Ricordi, C. (2018). Metabolomic changes in human adipose tissue derived products following non-enzymatic microfacturing. *European review for medical and pharmacological sciences*, 22(10), 3249–3260. https://doi.org/10.26355/eurrev_201805_15088
9. Lopa, S., Colombini, A., Moretti, M., & de Girolamo, L. (2019). Injective mesenchymal stem cell-based treatments for knee osteoarthritis: from mechanisms of action to current clinical evidences. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA*, 27(6), 2003-2020. <https://doi.org/10.1007/s00167-018-5118-9>
10. Panchal, J., Malanga, G., & Sheinkop, M. (2018). Safety and Efficacy of Percutaneous Injection of Lipogems Micro-Fractured Adipose Tissue for Osteoarthritic Knees. *American journal of orthopedics (Belle Mead, N.J.)*, 47(11), 10.12788/ajo.2018.0098. <https://doi.org/10.12788/ajo.2018.0098>
11. Schiavone Panni, A., Vasso, M., Braile, A., Toro, G., De Cicco, A., Viggiano, D., & Lepore, F. (2018). Preliminary results of autologous adipose-derived stem cells in early knee osteoarthritis: identification of a subpopulation with greater response. *International Orthopaedics*. doi:10.1007/s00264-018-4182-6
12. Thomas, A. C., Hubbard-Turner, T., Wikstrom, E. A., & Palmieri-Smith, R. M. (2017). Epidemiology of Posttraumatic Osteoarthritis. *Journal of athletic training*, 52(6), 491–496. <https://doi.org/10.4085/1062-6050-51.5.08>
13. Tremolada, C., Colombo, V., & Ventura, C. (2016). Adipose Tissue and Mesenchymal Stem Cells: State of the Art and Lipogems® Technology Development. *Current stem cell reports*, 2(3), 304–312. <https://doi.org/10.1007/s40778-016-0053-5>
14. Vezzani, B., Shaw, I., Lesme, H., Yong, L., Khan, N., Tremolada, C., & Péault, B. (2018). Higher Pericyte Content and Secretory Activity of Microfragmented Human Adipose Tissue Compared to Enzymatically Derived Stromal Vascular Fraction. *Stem cells translational medicine*, 7(12), 876–886. <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0051>

UDC: 618.14-002.2

SRSTI: 76.29.48

Kazakova A.V.

doctor of medicine, professor, Samara state medical University

Dufinets I. E.

Marinovskaia V.B

Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 443099, Samara, Russian Federation

THE ROLE OF CHRONIC ENDOMETRITIS IN REPRODUCTIVE FAILURE AND POSSIBLE PATHWAYS TO ENDOMETRIUM RECOVERY. (LITERATURE REVIEW)

Казакова Анна Владимировна

д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии № 2

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Дуфинец Ирина Евгеньевна

к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии № 2

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

Мариновская Виктория Борисовна

ординатор кафедры акушерства и гинекологии ИПО

ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России

МЕСТО ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА В ПРОБЛЕМЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ НЕУДАЧ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭНДОМЕТРИЯ. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Summary. The analysis of literary sources describing the pathogenesis of chronic endometritis, its role in the development of infertility, the lack of pregnancies and the failure to use assisted reproductive technologies. The article provides information on possible alternatives for endometrium restoration.

Аннотация. Проведен анализ литературных источников, в которых освещен патогенез хронического эндометрита, проанализирована его роль в развитии бесплодия, невынашивания беременности, неудач в использовании вспомогательных репродуктивных технологий. В статье приведены данные о возможных альтернативных методах восстановления эндометрия.

Key words: chronic endometritis, repeated failure implantation, receptivity, platelet-rich plasma treatment.

Ключевые слова: хронический эндометрит, повторно-неудачная имплантация, рецептивность, иммунокомпетентные клетки, обогащенная тромбоцитами плазма крови.

Введение.

Проблема хронического эндометрита до сих пор актуальна для медицинского сообщества, так как сохранение репродуктивного здоровья женщины и рождение здорового ребенка являются первостепенными задачами. Это подтверждается программными документами Всемирной организации здравоохранения и государственной программой Российской Федерации «Развитие здравоохранения» (2018-2025 гг.). Хронический эндометрит диагностируется в 37-46% случаев у пациенток с диагнозом «Бесплодие неясного генеза», а при диагнозе «Повторно-неудачная имплантация» (ПНИ) в 47-55% [1] случаев. По этой причине при обследовании пациенток с бесплодием особую значимость приобретает изучение структурно-функционального состояния полости матки и эндометрия.

По мнению Шуршалиной А.В., хронический эндометрит (ХЭ) – клиноморфологический синдром, при котором в результате персистирующего повреждения эндометрия инфекционным агентом возникают множественные вторичные морфофункциональные изменения, нарушающие циклическую биотрансформацию и рецептивность слизистой оболочки тела матки.[2]

В современных исследованиях хронический эндометрит, нередко, рассматривается как аутоиммунный, безмикробный процесс. Иммунная недостаточность является важным патогенетическим фактором, способствующим развитию воспаления эндометрия на фоне дезадаптации иммунной системы, вторичного иммунного дефицита, снижающего сопротивление организма к инфекции.

По данным Л.И. Мальцевой и соавт., хронический эндометрит является микробным или микробно-вирусным заболеванием. Вирусная инфекция выявляется у 49% женщин и играет большую роль в нарушении функционального

состояния эндометрия и осложненном течении эндометрита. [3]

Пуанте Е. с соавт. в литературном обзоре пишет, что хронический эндометрит определяется как локализованное воспаление эндометрия, характеризующееся наличием отека, повышенной плотностью клеток стромы, диссоциированным созреванием между эпителиальными клетками и стромальными фибробластами, а также наличие плазменных клеток, проникающих в строму. Эти изменения на уровне эндометриальной микросреды могут повлиять на восприимчивость эндометрия.[4]

На основании всех определений хронического эндометрита, мы можем предположить, что данное заболевание полиэтиологично и до конца не изучено.

Патофизиология микросреды эндометрия.

Эндометрий - уникальная ткань, которая подвергается ежемесячным циклическим изменениям, приводящим к менструации, пролиферации, секреции и децидуализации под воздействием половых гормонов. Эндометрий содержит большое разнообразие иммунокомпетентных клеток, естественных убийц (NK), макрофагов, Т-клеток и нейтрофилов, состав и плотность которых периодически колеблются. Циклически зависимые изменения в этих подгруппах лейкоцитов и их посредников, вероятно, играют решающую роль в имплантации[4]. В отличие от этого, В-лимфоциты и плазматические клетки редко встречаются в эндометриальной ткани.

В нормальном эндометрии В-лимфоциты расположены только в базальном слое, что составляет менее 1 % от общего числа лейкоцитов. И наоборот, при ХЭ большая популяция В-лимфоцитов присутствует как в базальном слое эндометрия, так и в эпителии желез, а также в просвете эндометриальных желез.[6] (см. рис 1)

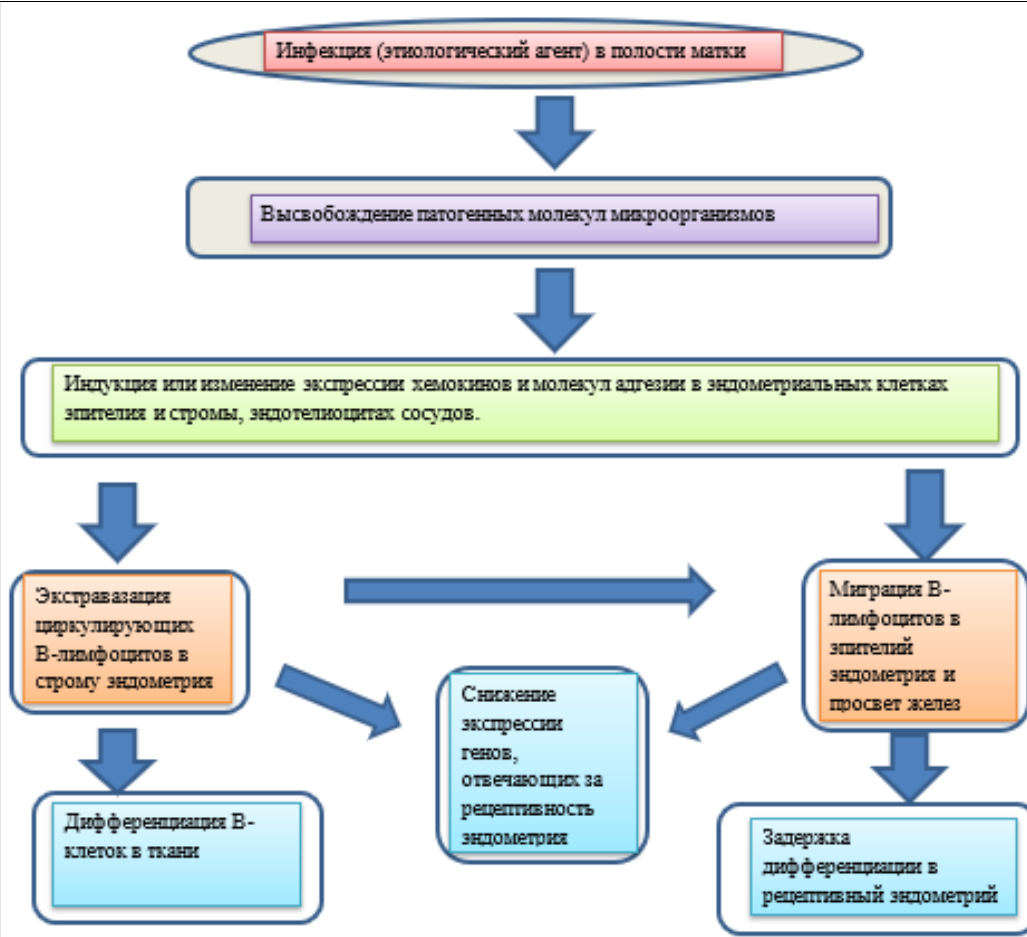


рис.1

эндометрия. Кроме того, Е-селектин способствует экспрессии хемоаттрактанта CXCL13, активации молекул адгезии В-клеток и экспрессии CXCL1 на уровне желез эндометрия. В этой микросреде грам-отрицательные бактерии в эндометрии вызывают аномальный иммунный ответ с миграцией В- лимфоцитов в строму эндометрия. На эндометриальном уровне плазменные клетки стромы экспрессируют множественные иммуноглобулины (Ig M, IgA1, IgG1 и IgG2), в то время как избыток этих антител может негативно повлиять на имплантацию эмбриона.[6]

В исследовании, проведенном Ди Пьетро и соавт. показано, что при ХЭ стромальные клетки секретируют белок IGFBP1 во время процесса децидуализации, оказывая отрицательное воздействие на процесс имплантации и противодействующее действие IGF2. Таким образом, увеличение экспрессии IGFBP1 и уменьшение экспрессии IGF1 при ХЭ может привести к неблагоприятным условиям для имплантации и эмбрионального развития.[7]

Таким образом мы видим, что ХЭ может оказать отрицательное влияние на выработку цитокинов, нарушить функцию эндометрия и вызвать аномальную структуру лейкоцитов, что приводит к изменению секреции паракаринных факторов, участвующих в эндометриальной восприимчивости.

Как сообщается в других докладах, сокращение производства IL-11 эпителиальными и стромальными клетками может привести к дисрегуляции трофобластической инвазии, ассоциирующей с бесплодием. Аналогичным образом, более низкая активность CCL4 при ХЭ может привести к сокращению набора NK и макрофагов, что объясняет наблюдаемые неудачи имплантации[8]. Кроме того, пониженная регуляция BCL2 и CASP8 , связанная с активизацией BAX , вызывает эндометриальную клеточную устойчивость к апоптозу и нарушает правильный процесс имплантации.[9]

Диагностика хронического эндометрита.

На сегодняшний день вопросы диагностики хронического эндометрита остаются спорными. Золотым стандартом диагностики является морфологическое исследование. Морфологические критерии хронического эндометрита хорошо известны и включают в себя очаговые или диффузные лимфоидные инфильтраты, располагающиеся обычно вокруг желез и сосудов, фиброз стромы, склероз стенок спиральных артерий, плазматические клетки. Абсолютным доказательством воспалительного процесса являются именно плазматические клетки в строме эндометрия.[10] Вместе с тем было установлено, что наличие плазматических клеток при хроническом эндометрите не коррелирует с бактериальной колонизацией эндометрия или

клиническими проявлениями воспалительных заболеваний органов малого таза[11]. Так, эндометрит был гистологически диагностирован по наличию плазматических клеток лишь у 39% женщин, которым была проведена биопсия эндометрия, тогда как у 82% наблюдались положительные результаты микробиологических посевов и гистероскопические симптомы эндометрита. Плазматические клетки — основное доказательство хронического эндометрита, но именно их выявление представляет большие трудности из-за несовершенства методик. Невозможность их обнаружения даже при очевидном эндометрите снижает диагностическую ценность морфологического исследования. В связи с этим было предложено иммуногистохимическое определение мембранного белка синдикана 1[12], который в эндометрии является маркером плазматических клеток и его обнаружение увеличивает диагностическую ценность гистологического исследования до 85%. Внедрение иммуногистохимических методов сглаживают различия между результатами гистологических и гистероскопических методов исследований. Таким образом, иммуногистохимическое исследование эндометрия, позволяющее установить иммунный характер повреждения эндометрия, получило широкое распространение ввиду высокой диагностической ценности. В то же время противоположным является предложение экспертов ставить диагноз на основании гистероскопии. Cicinelli и соавт. предложили следующие гистероскопические критерии: единичные или множественные очаги гиперемии со светлым точечным центром, так называемый «симптом клубники», стромальный отек (бледный и утолщенный эндометрий в фазе пролиферации) и микрополипы (небольшие педикюрные, сосудистые выступы слизистой матки размером 1 мм). [13] Позиция этой группы заключается в том, что ХЭ диагностируется наличием по крайней мере одного признака, и они сообщили о высокой чувствительности и специфичности гистероскопической диагностики в гистологическом подтверждении ХЭ.

По данным Liu Y, Chen X и соавторов обнаружение гиперемии эндометрия, микрополипов или эндометриального интерстициального отека во время гистероскопии должно предупредить о диагнозе ХЭ, но общая точность гистероскопического обследования в отношении диагноза ХЭ составляет лишь 67%, поэтому его не следует использовать для замены

гистологического обследования в качестве диагностического средства выбора[14]. У женщин, у которых вероятен диагноз ХЭ, эндометриальная биопсия должна быть получена для исследования плазматических клеток иммуногистохимией, которая должна оставаться предпочтительным методом диагностики.

Клиника.

ХЭ часто является бессимптомным или протекает с неспецифическими клиническими симптомами, такими как боль в тазовой области, аномальное маточное кровотечение, споттинг, диспареуния, вагинит, периодический цистит и легкий желудочно-кишечный дискомфорт. Неспецифические симптомы и важность проведения биопсии эндометрия для подтверждения диагноза затрудняет оценку распространенности этого заболевания.[15]

Основываясь на данных биопсии эндометрия пациентов, перенесших диагностическую гистероскопию по поводу доброкачественной патологии матки, распространенность ХЭ составляет 10-11 % от общей численности населения, 3-10% от пациенток с аномальным маточным кровотечением и до 72 % женщин с подозрением на воспаление тазовых органов в связи с заболеваниями, передаваемыми половым путем (ЗППП)[4]. Что касается пациенток с бесплодием, то степень распространенности значительно варьирует в зависимости от используемого метода биопсии и обследуемой популяции. В перспективном исследовании, опубликованном Cicinelli и соавт., в котором было проведено в общей сложности 2190 диагностические гистероскопии с различными показателями, они обнаружили наличие 20% (438 пациенток) с ХЭ, среди которых 37% также были бесплодными.[16] Однако Касиус и др. сообщили о том, что распространенность заболевания составляет лишь 2.8 %.[17]

ХЭ может быть результатом присутствия инфекционных агентов или структурной патологии полости матки, таких как наличие внутриматочного устройства (ВМС), подслизистых миом, полипов, сохраненных продуктов зачатия. Наиболее частыми инфекционными агентами являются распространенные бактерии, часто встречающиеся в урогенитальной области, такие как *Streptococcus* (27%), *E. coli* (11%), *Enterococcus faecalis* (14%) и *Ureaplasma urealyticum* (11%). Наличие *Chlamydia tr.* составляет всего 2.7%, а *Neisseria g.* практически не обнаруживается как возбудитель ХЭ. [4]

Специфические этиологические агенты хронического эндометрита в образцах эндометрий женщин, подвергающихся гистероскопии, по различным признакам (n = 438)

Escherichia coli	50
Streptococci	122
Staphylococci	20
Enterococcus faecalis	62
Chlamydia	12
Ureaplasma	44
Yeast	10
Total	320

Таблица 3[18].

Специфические этиологические агенты хронического эндометрита в эндометриальных образцах бесплодных женщин с повторно-неудачной имплантацией.

Corynebacterium	10/142 (7.0)
Enterococcus	15/142 (10.6)
Escherichia coli	14/142 (9.9)
Klebsiella pneumoniae	2/142 (1.4)
Streptococcus spp.	11/142 (7.7)
Staphylococcus spp.	12/142 (8.4)
Chlamydia trachomatis	2/142 (1.4)
Neisseria gonorrhoeae	0/142 (0)
Mycoplasma	12/46 (26.1)
Ureaplasma	20/46 (43.4)

Поэтому возникает вопрос о происхождении бактерий во внутриматочной полости. Cicinelli и соавт. исследовали бактериальные культуры эндометриальной ткани у 438 пациентов и обнаружили патогены только у 73 % из них. Кроме того, у пациенток, у которых патогенные бактерии обнаружены и в вагинальных выделениях, и в эндометриальной ткани, только у 32.6% это одни и те же инфекционные агенты. Это доказывает, что результаты бактериальных культур влагалища не могут предсказать эндометриальный микробиом у пациенток ХЭ[16]. Кроме того, причина ХЭ не обязательно может быть восходящей инфекцией от интравагинальной бактериальной флоры, а нарушение эпителиального барьера (например, гингивит) приводит к гематогенному распространению пероральных или кишечных бактерий, что позволяет обитающим бактериям в слизистых участках ротовой полости и желудочно-

кишечного тракта[19] колонизировать дистальные участки слизистой оболочки.

Последние исследования также показали что, возможно, микроорганизмы брюшной полости из желудочно-кишечного тракта попадают в матку через фаллопиевы трубы[20].

В последнее время были разработаны новые методы, позволяющие обнаруживать небольшое число бактерий с высокой чувствительностью. Исследования с использованием этих новых методов показали, что внутриутробная колонизация бактерий происходит даже в нормальном физиологическом состоянии. Ранее обнаружение бактериальной колонизации зависело от используемого метода культивирования, который, как правило, не позволял охарактеризовать малые колонии. Однако в последнее время малая биомасса микробиоты[21] может быть охарактеризована и выделена при помощи технологии количественной полимеразной

цепной реакции и секвенированием следующего поколения гена 16S rRNA. С помощью этих методов было обнаружено, что лактобациллы доминируют в эндометрии здоровых женщин, а также в микрофлоре влагалища. Тем не менее, Fang и соавторы сообщили о более высоком показателе выявления лактобацилл у пациентов с эндометриальными полипами или с эндометриальными полипами и ХЭ (38.6% и 33.2%, соответственно) по сравнению со здоровыми женщинами (6.2%). Кроме того, наличие девяти патогенов было оценено в режиме реального времени ПЦР в эндометриальных образцах пациентов, которые были обследованы на ХЭ иммуногистохимической диагностикой CD138. Аналогичные показатели обнаружения патогенов наблюдались у пациентов с ХЭ и пациентов без ХЭ (24/40 против 14/25)[22]. Эти результаты указывают на непоследовательность в обнаружении микроорганизмов внутри полости матки при ХЭ. Таким образом, основной проблемой ХЭ считается взаимодействие между микроорганизмами и эндометриальным иммунитетом, а не просто присутствие микроорганизмов в эндометрии, так как последствия этого взаимодействия влияют на децидуализацию и имплантацию. Соответственно, для улучшения прогнозов имплантации при синдроме ПНИ, только антибактериальной терапии может быть недостаточно.

Применение антибактериальной терапии при ХЭ и ее влияние на последующую фертильность.

Рассмотрим исследования, проведенные Джонстоном-Макананни[23] и др., и Cicinelli и др., где пациентки с ПНИ были подвергнуты лечению антибиотиками. Пациентки в течение двух недель лечились 100 мг доксициклина, затем ципрофлоксацином и метронидазолом 500 мг (дважды в день) в течение двух недель в тех случаях, когда все еще наблюдались положительные культуры.

Что касается репродуктивных последствий, то Cicinelli[24] и др. обнаружили, что коэффициент живорожденных составляет 61% у пациентов, реагирующих на антибиотики, в то время как коэффициент живорожденных составлял лишь 13% у пациентов, которые не реагировали на антибиотическую терапию.

В целом оба исследования свидетельствуют о том, что ХЭ оказывает негативное воздействие на эндометриальную восприимчивость и что адекватная реакция на антибиотическую терапию может значительно улучшить репродуктивные результаты. Тем не менее, диагностическая гистероскопия сама и эндометриальная биопсия также могут играть положительную роль. С одной стороны, гистероскопия может физически удалять бактериальные биопленки, используемые в патофизиологии ХЭ; С другой стороны, эндометриальная биопсия и последующий процесс восстановления могут способствовать секреции

цитокинов и факторов роста в эндометрии, участвующих в имплантации эмбриона.

В другом исследовании Cicinelli и др. лечили бесплодных пациентов с ПНИ систематическими режимами антибиотиков в соответствии с их эндометриальными микробными профилями - амоксициллин + клавуланат (2 г/день в течение 8 дней). Пациенты с инфекцией, вызванной *Mycoplasma* и *Ureaplasma* лечились джозамицином (2 г/сутки в течение 12 дней), а миноциклин (200 мг/сутки в течение 12 дней) вводился в устойчивых случаях, второй линией была комбинация цефтриаксона (250 мг, однократная доза в виде внутримышечной инъекции), доксициклина (200 мг/день в течение 14 дней) и метронидазола (1000 мг/сутки в течение 14 дней). 28% (17/61) пациентов ХЭ были гистопатологически вылечены после первого курса антибиотиков, 23% (14/61) и 25% (15/61) пациентов, вылеченных вторым и третьим курсами антибиотиков, соответственно. Таким образом, ХЭ сохранялся у 25% (15/61) пациентов после трех последовательных курсов лечения антибиотиками. Эти результаты указывают на эффективность пероральной антибиотической терапии ХЭ[24].

Альтернатива антибиотикам.

Пероральный антимикробный режим считается золотым стандартом при лечении ХЭ. Хотя антимикробные средства устраняют эндометриальные стромальные плазматиты, изменения эндометриальных/внутриматочных микробных профилей пациентов с ХЭ остаются неясными. Предложен широкий спектр антибиотиков для лечения ХЭ, таких как доксициклин, ципрофлоксацин, метронидазол, офлоксацин, амоксициллин, клавуланат, джозамицин и миноциклин[25]. Вместе с тем некоторые случаи ХЭ не дают удовлетворительного ответа на эти широко применяемые методы лечения, что обуславливает необходимость изучения альтернативных вариантов при рассмотрении таких случаев.

Как известно, прекращение воспаления маточной стромы составляет основу терапии ХЭ. Этой цели могут служить различные механизмы, такие как усиленный апоптоз провоспалительных клеток, уменьшение экспрессии значительного числа факторов, включая простагландины, провоспалительные цитокины (IL-1, Tnf α) и матричные металлопротеиназы, а также повышенная экспрессия противовоспалительных молекул, включая антагонист рецептора интерлейкина 1 и рецептор фактора некроза опухоли (TNFR). Кроме того, было обнаружено, что расщепление хемокинов с матричными металлопротеиназами приводит к образованию противовоспалительных факторов, в то время как увеличение выживаемости клеток в очагах воспаления, вызванное взаимодействием с внеклеточной матрицей, часто способствует прекращению воспаления[26].

Внутриматочная терапия обогащенной тромбоцитами плазмой крови (ОТПК) может активировать многие из вышеупомянутых процессов. Применение факторов на основе тромбоцитов в поврежденных тканях может способствовать оздоровительному обновлению и регенерации. Биоактивный характер этих факторов, состоящих из коагуляционных факторов, белков с антибактериальными и фунгицидными эффектами и мембранных гликопротеинов, оказывают прямое и пропорциональное воздействие на интерлейкины и синтез хемокинов, что, согласно сообщениям, позволяет регулировать воспалительные симптомы[27].

По данным Чжу и др., дофамин и ионы кальция, альфа-гранулярные факторы роста имеют огромное значение для заживления ран и регенерации тканей[28]. Недавно проведенное исследование, посвященное изучению кобыл с хроническим дегенеративным эндометритом, показало, что инфузия матки PRP в качестве иммуномодулятора воспалительного ответа, может модулировать локальный воспалительный ответ, уменьшая количество полиморфноядерных нейтрофилов в строме матки[26].

Кроме того, внутриматочная терапия ОТПК показала, что она способствует эндометриальному росту, улучшая результаты беременности у пациенток с тонким эндометрием из-за факторов роста. В состав ОТПК входят такие факторы роста как: сосудистый эндотелиальный фактор роста, фактор роста на основе тромбоцитов, трансформирующий фактор роста бета, инсулин-подобный фактор роста, эпидермальный фактор роста, фактор, который стимулирует процесс заживления.

В литературе описаны случаи применения технологии ОТПК в лечении пациенток с ХЭ, устойчивым к антибактериальной терапии, и исследование K.Sfakianoudis и соавт. доказывает, что ОТПК обладает потенциалом использования в качестве успешного терапевтического инструмента для ХЭ[25].

Так, в 2015 г. Y.Chang и соавт. представили данные об эффективности внутриматочной перфузии для стимуляции роста эндометрия у 5 пациенток, перенесших отмену переноса эмбрионов ввиду резистентного «тонкого» эндометрия. После лечения у всех пациенток отмечен адекватный рост эндометрия и зарегистрировано наступление клинической беременности[29].

Патогенетическая обоснованность использования обогащенной тромбоцитами плазмы крови при ПНИ стала очевидной только после выявления недостаточности экспрессии факторов роста в эндометрии у пациенток с повторными неэффективными попытками имплантации по сравнению с фертильными женщинами. В исследовании L.Nazari и соавт. 18 женщин с ПНИ перенесли внутриматочную перфузию 0,5 мл ОТПК за 48 ч до переноса эмбрионов. У 16 женщин

наступила клиническая беременность, одна беременность перестала развиваться на раннем сроке[30].

Заключение.

Частота встречаемости хронического эндометрита в настоящее время довольно высока, и, несмотря на значительные успехи репродуктивной медицины, частота наступления беременности после лечения данного заболевания все еще остается низкой, из этого следует необходимость тщательной подготовки эндометрия к имплантации эмбриона, особенно у женщин с ранее безуспешными исходами данной программы. Поэтому актуальным остается вопрос терапии хронического эндометрита и реабилитации эндометрия после этого.

Список литературы

1. Мальцева Л.И., Шарипова Р.И., Железова М.Е. Хронический эндометрит — смена привычных представлений. Практическая медицина. 2018. Том 16, № 6, С. 99-105. Maltseva L.I., Sharipova R.I., Zhelezova M.E. Chronic endometritis — changing conventional thinking. Practical Medicine. 2018. Vol. 16, no 6, P. 99-105
2. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: руководство. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 64 с. — (Библиотека врача-специалиста). Sukhikh G.T., Shurshalina A.V. Khronicheskii endometrit: rukovodstvo. - M.: GEOTAR-Media, 2013. — 64 s. — (Biblioteka vracha-spetsialista)
3. Мальцева Л.И., Шарипова Р.И., Цыплаков Д.Э., Железова М.Е. Морфофункциональное состояние эндометрия у женщин с бактериально-вирусным эндометритом // Практическая медицина. — 2017. — №7. — С. 87-91. Maltseva L.I., Sharipova R.I., Cyplakov D.Je., Zhelezova M.E. Morfofunkcional'noe sostojanie jendometrija u zhenshin s bakterial'no-virusnym jendometritom // Prakticheskaja medicina. — 2017. — №7. — S. 87-91.
4. Puente E, Alonso L, Laganà AS, Ghezzi F, Casarin J, Carugno J. Chronic endometritis: old problem, novel insights and future challenges. Int J Fertil Steril. 2020;13(4):250–6. DOI: 10.22074/ijfs.2020.5779.
5. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A et al. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. J Obstet Gynaecol Res. 2019;45(5):951–60. DOI: 10.1111/jog.13937.
6. Kitaya K, Matsubayashi H, Yamaguchi K, Nishiyama R, Takaya Y, Ishikawa T et al. Chronic Endometritis: Potential Cause of Infertility and Obstetric and Neonatal Complications. Am J Reprod Immunol. 2016;75(1):13–22. DOI: 10.1111/aji.12438
7. Di Pietro C, Cicinelli E, Guglielmino MR, Ragusa M, Farina M, Palumbo MA, et al. Altered transcriptional regulation of cytokines, growth factors, and apoptotic proteins in the endometrium of infertile women with chronic endometritis. Am J Reprod Immunol. 2013;69(5):509–517.



8. Kitaya K, Yasuo T, Tada Y, Hayashi T, Iwaki Y, Karita M, et al. Unusual inflammation in gynecologic pathology associated with defective endometrial receptivity. *Histol Histopathol.* 2014;29(9):1113–1127.
9. Vaskivuo TE, Stenbäck F, Tapanainen JS. Apoptosis and apoptosis-related factors Bcl-2, Bax, tumor necrosis factor-alpha, and NFkappaB in human endometrial hyperplasia and carcinoma. *Cancer.* 2002;95(7):1463–1471
10. Михалева Л.М., Болтовская М.Н., Михалев С.А., Бабиченко И.И., Вандышева Р.А. Клинико-морфологические аспекты эндометриальной дисфункции, обусловленной хроническим эндометритом. *Архив патологии.* 2017;79(6):22–29. Mikhaleva LM, Boltovskaya MN, Mikhalev SA, Babichenko II, Vandysheva RA. Endometrial dysfunction caused by chronic endometritis: clinical and morphological aspects. *Archive of pathology.* 2017;79(6):22–29 (In Russ.). DOI: 10.17116/patol201779622-29
11. Andrews W.W., Goldenberg R.L., Hauth J.C., et al. Endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis after spontaneous or indicated preterm versus term delivery // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2005. — 193. — P. 739-745.
12. Reza Peymani and Alan De Cherney. *Microbiome, Infection and Inflammation in Infertility*, 2016. *Genital Infections and Infertility At ef Darwish*, Intech Open, DOI: 10.5772/63090.
13. Cicinelli E., Resta L., Nicoletti R., et al. Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis // *Human Reproduction.* — 2005. — 20. — P. 1386-9.
14. Liu Y, Chen X, Huang J, Wang C, C. Yu M, Y. Laird S, et al. Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure. *Fertil Steril.* 2018; 109: 832-839
15. Zargar M, Ghafourian M, Nikbakht R, Mir Hosseini V, Moradi Choghakabodi P. Evaluating Chronic Endometritis in Women with Recurrent Implantation Failure and Recurrent Pregnancy Loss by Hysteroscopy and Immunohistochemistry. *J Minim Invasive Gynecol.* 2020;27(1):116–21. DOI: 10.1016/j.jmig.2019.02.016.
16. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, Colafoglio G, Saliani N, Resta L, Rizzi D, De Vito D. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril.* 2008;89(3):677–684
17. Kasius JC, Broekmans FJ, Sie-Go DM, Bourgain C, Eijkemans MJ, Fauser BC, et al. The reliability of the histological diagnosis of endometritis in asymptomatic IVF cases: a multicenter observer study. *Hum Reprod.* 2012;27(1):153–158.
18. Kitaya K, Matsubayashi H, Takaya Y et al. Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure. *Am J Reprod Immunol* 2017; 78: e12719.
19. Chen C, Song X, Wei W et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun* 2017; 8: 875
20. Campos GB, Marques LM, Rezende IS, Barbosa MS, Abrão MS, Timenetsky J. *Mycoplasma genitalium* can modulate the local immune response in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2018; 109: 549–560.
21. Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM. Uterine microbiota: Residents, tourists, or invaders? *Front Immunol* 2018; 9: 208.
22. Fang RL, Chen LX, Shu WS, Yao SZ, Wang SW, Chen YQ. Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps. *Am J Transl Res* 2016; 8: 1581–1592
23. Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2010;93(2):437–41. DOI:10.1016/j.fertnstert.2008.12.131
24. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod.* 2015; 30(2):323–30. DOI: 10.1093/humrep/deu292.
25. Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, Lazaros L, Rapani A, Pantou A et al. Successful implantation and live birth following autologous platelet-rich plasma treatment for a patient with recurrent implantation failure and chronic endometritis. *In Vivo.* 2019;33(2):515–21. DOI: 10.21873/invivo.11504.
26. Reghini MFS, Ramires Neto C, Segabinazzi LG, Castro Chaves MMB, Dell'Aqua C de PF, Bussiere MCC, Dell'Aqua JA, Papa FO, Alvarenga MA. Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology.* 2016;86:516–522
27. Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg.* 2005;16:1043–1054.
28. Zhu Y, Yuan M, Meng HY, Wang AY, Guo QY, Wang Y, Peng J. Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2013;21:1627–1637
29. Chang Y, et al. Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:1: 1286-1290
30. Nazari L., M.D., Salehpour S., M.D., Hoseini S., M.D., Zadehmodarres S., M.D., Ajori L. Effects of autologous platelet-rich plasma on implantation and pregnancy in repeated implantation failure: A pilot study // *Int J Reprod BioMed.* 2016 Oct. Vol. 14. No 10. P. 625–628.

#10(62), 2020 часть 1
Восточно Европейский научный журнал
(Санкт-Петербург, Россия)
Журнал зарегистрирован и издается в России
В журнале публикуются статьи по всем
научным направлениям.
Журнал издается на русском, английском и
польском языках.

Статьи принимаются до 30 числа каждого
месяца.

Периодичность: 12 номеров в год.

Формат - А4, цветная печать

Все статьи рецензируются

Бесплатный доступ к электронной версии
журнала.

Редакционная коллегия

Главный редактор - Адам Барчук

Миколай Вишневецки

Шимон Анджеевский

Доминик Маковски

Павел Левандовски

Ученый совет

Адам Новицки (Варшавский университет)

Михал Адамчик (Институт
международных отношений)

Питер Коэн (Принстонский университет)

Матеуш Яблоньски (Краковский
технологический университет имени
Тадеуша Костюшко)

Петр Михалак (Варшавский университет)

Ежи Чарнецкий (Ягеллонский университет)

Колуб Френнен (Тюбингенский
университет)

Бартош Высоцкий (Институт
международных отношений)

Патрик О'Коннелл (Париж IV Сорбонна)

Мацей Качмарчик (Варшавский
университет)

#10(62), 2020 part 1

Eastern European Scientific Journal
(St. Petersburg, Russia)
The journal is registered and published in Russia
The journal publishes articles on all scientific
areas.
The journal is published in Russian, English
and Polish.

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

Periodicity: 12 issues per year.

Format - A4, color printing

All articles are reviewed

Free access to the electronic version of journal

Editorial

Editor-in-chief - Adam Barczuk

Mikolaj Wisniewski

Szymon Andrzejewski

Dominik Makowski

Pawel Lewandowski

Scientific council

Adam Nowicki (University of Warsaw)

Michal Adamczyk (Institute of International
Relations)

Peter Cohan (Princeton University)

Mateusz Jablonski (Tadeusz Kosciuszko
Cracow University of Technology)

Piotr Michalak (University of Warsaw)

Jerzy Czarnecki (Jagiellonian University)

Kolub Frennen (University of Tübingen)

Bartosz Wysocki (Institute of International
Relations)

Patrick O'Connell (Paris IV Sorbonne)

Maciej Kaczmarczyk (University of Warsaw)

Давид Ковалик (Краковский технологический университет им. Тадеуша Костюшко)

Питер Кларквуд (Университетский колледж Лондона)

Игорь Дзедзич (Польская академия наук)

Александр Клиmek (Польская академия наук)

Александр Роговский (Ягеллонский университет)

Кехан Шрайнер (Еврейский университет)

Бартош Мазуркевич (Краковский технологический университет им. Тадеуша Костюшко)

Энтони Маверик (Университет Бар-Илан)

Миколай Жуковский (Варшавский университет)

Матеуш Маршалек (Ягеллонский университет)

Шимон Матысяк (Польская академия наук)

Михал Невядомский (Институт международных отношений)

Главный редактор - Адам Барчук

1000 экземпляров.

Отпечатано в ООО «Логика+»

198320, Санкт-Петербург,

Город Красное Село,

ул. Геологическая,

д. 44, к. 1, литера А

«Восточно Европейский Научный Журнал»

Электронная почта: info@eesa-journal.com,

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

Dawid Kowalik (Kracow University of Technology named Tadeusz Kościuszko)

Peter Clarkwood (University College London)

Igor Dzedzic (Polish Academy of Sciences)

Alexander Klimek (Polish Academy of Sciences)

Alexander Rogowski (Jagiellonian University)

Kehan Schreiner (Hebrew University)

Bartosz Mazurkiewicz (Tadeusz Kościuszko Cracow University of Technology)

Anthony Maverick (Bar-Ilan University)

Mikołaj Żukowski (University of Warsaw)

Mateusz Marszałek (Jagiellonian University)

Szymon Matysiak (Polish Academy of Sciences)

Michał Niewiadomski (Institute of International Relations)

Editor in chief - Adam Barczuk

1000 copies.

Printed by Logika + LLC

198320, Region: St. Petersburg,

Locality: Krasnoe Selo Town,

Geologicheskaya 44 Street,

Building 1, Litera A

"East European Scientific Journal"

Email: info@eesa-journal.com,

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