

ISSN 2664-472X

e ISSN 2664-4738

Medical Science of Ukraine

Медична наука України

2021, Vol. 17, № 1

Medical Science of Ukraine, 2021, Vol. 17, № 1



ISSN 2664-472X



9 772664 472004



17

ISSN 2664-472X
e ISSN 2664-4738
<https://doi.org/10.32345>
Medical science of Ukraine
2021, Vol. 17, No. 1

Certificate of state registration:
KB № 21521-11421 IIP dated 18.08.2015

Periodicity:
published four times a year

Scientific and practical journal in the field: Medicine.
Distributed in Ukraine and abroad

Founder:
Bogomolets National Medical University

Editor in Chief: Zemskov S. V.

Deputy Editor-in-Chief:
Kanyura O. A., Babel N. (Germany)

Members of the editorial board:
Gruzeva O. V. (Sweden), Grando S. O. (USA), Babel N. (Germany), Kulchytsky V. A. (Belarus), Srivastava H. M. (Canada), Shamsi Sh. (India), Kafipour R. (Iran), Omelchuk S. T., Zakharash U. M., Ziablitshev S. V., Nizhenkivska I. V., Khaytovych M. V., Iaremenko O. B., Natrus L. V., Dyndar O. A., Guryanov V. G., Chaly K. O., Dzhus M. B., Panova T. I., Zhegulovych Z. E., Zhaboedov D. G., Ventskiy B. M., Mykhailachenko B. V., Ushko Ia. A., Nishkumay O. I., Netyazhenko N. V., Kulbashna Y. A., Vygovska O. V. (Ukraine)

The journal «Medical Science of Ukraine» is included in the list of scientific professional editions of Ukraine (category «B»), which are recommended for publication of dissertation materials for obtaining scientific degrees of the doctor of sciences (Sc.D.) and candidate of sciences (Ph.D.).

Branch of science – medical sciences in the following specialties:

221 – Dentistry
222 – Medicine
224 – Technologies of medical diagnostics and treatment
225 – Medical psychology
226 – Pharmacy, industrial pharmacy
227 – Physical therapy, occupational therapy
228 – Pediatrics
229 – Public Health

Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine on 26th of November, 2020, No. 1471 (Appendix 3, paragraph 44)
Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine on 13th of March, 2017, No. 374
The decision of the State Accreditation Commission of Ukraine on 18th of November, 2009, № n 1-05/5

Address of the editor:
Shevchenko's boulevard, 13, Kyiv, 01601

For correspondence:
01601, Kyiv, Shevchenko's boulevard, 13
Tel/fax (044) 234-69-75; (095) 244-27-26

Web-site: msu-journal.com

E-mail: msu@nmu.ua; msu.nmu34@gmail.com

For the reliability of the information in the publications, the authors of the article bear responsibility. Author's materials do not always reflect the point of view of the editorial staff.
In case of reprinting the reference is required.

Signed for print on March 29, 2021
Conditional printed sheets 11. Format 60x84 1/8.
Circulation 500 copies.
Published by Publishing House «Buk-Druk»
Ukraine, Zhytomyr, street Mala Berdychivska, 17A
Phone: +38063 101 22 33
Certificate DK № 3544 dated 05.08.2009

ISSN 2664-472X
e ISSN 2664-4738
<https://doi.org/10.32345>
Медицина наука України
2021, Т. 17, № 1

Свідоцтво про державну реєстрацію
KB № 21521-11421 IIP від 18.08.2015

Періодичність видання:
1 раз на квартал
Галузь науки: медична
Категорія: Б
Статус видання: розповсюджується в Україні та за кордоном

Засновник
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Головний редактор: Земсков С. В.

Заступники редактора:
Канюра О. А., Babel N. (Німеччина)

Члени редколегії:
Gruzeva O. V. (Швеція), Grando S. O. (США), Babel N. (Німеччина), Кульчицький В. А. (Білорусь), Srivastava H. M. (Канада), Shamsi Sh. (Індія), Кафірпур Р. (Іран), Омельчук С. Т., Захараш Ю. М., Зяблицев С. В., Ніженківська І. В., Хайтович М. В., Яременко О. Б., Натрус Л. В., Диндар О. А., Гур'янов В. Г., Чалий К. О., Джус М. Б., Панова Т. І., Жегулович З. Є., Жабосдов Д. Г., Венцківський Б. М., Михайліченко Б. В., Ушко Я. А., Нішкумай О. І., Нетяженко Н. В., Кульбашна Я. А., Виговська О. В. (Україна)

Журнал «Медицина наука України» включено в категорію «Б» – перелік наукових фахових видань України, рекомендованих для публікації дисертаційних матеріалів на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та доктора філософії у галузі «Медицина», спеціальності:

221 – стоматологія
222 – медицина
224 – технології медичної діагностики та лікування
225 – медична психологія
226 – фармація, промислова фармація
227 – фізична терапія, ерготерапія;
228 – педіатрія;
229 – громадське здоров'я

Наказ Міністерства освіти та науки України від 26.11.2020, № 1471 (Додаток 3, пункт 44)
Наказ Міністерства освіти та науки України від 13.03.2017, № 374
Постанова Президії Вищої Атестаційної Комісії України від 18.11.2009, № n 1-05/5

Адреса редакції:
01601, м. Київ, бульв. Шевченка, 13

Для кореспонденції:
01601, м. Київ, бульв. Т. Шевченка, 13
Тел./факс (044) 234-69-75; моб. (095) 244-27-26 (секретар)

Сайт видання: msu-journal.com

E-mail: msu@nmu.ua; msu.nmu34@gmail.com

За достовірність інформації в публікаціях відповідальність несуть автори статті. Авторські матеріали не завжди віддзеркалюють точку зору редакції.
При передруку посилання обов'язкове.

Підписано до друку 29.03.2021
Ум. друк. арк. 11. Формат 60x84 1/8.
Тираж 500 прим. Зам.
Надруковано у ТОВ «Видавництво Бук-Друк»
Україна, м. Житомир, вул. Мала Бердичівська, 17А
Тел.: +38063 101 22 33
Свідоцтво ДК № 3544 від 05.08.2009 р

Medical Science of Ukraine

Медицина наука України

2021. Т. 17, № 1

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

<https://doi.org/10.32345/2664-4738.1.2021>

Періодичність видання – 1 раз на квартал

ЗМІСТ

ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

Panova T.I., Bortnikova A.K., Myronenko O.I.
Drinking and hedonic behavior of alcoholized rats

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

*Shanko Y.G., Krivenko S.I., Goncharov V.V.,
Novitskaya V.V., Zamaro A.S., Tanin A.L., Nekhai
M.A., Tokalchik Y.P., Novikova L.A., Kolyadich Z.V.,
Kulchitsky V.A.* Mesenchymal stem cells in the
complex treatment of traumatic brain injury

*Khaitovych M.V., Voroniuk L.M., Borisova
G.Yu., Diudenko NV., Miagka N.M.* Multisystem
inflammatory syndrome in children: diagnostic
markers and features
of pharmacotherapy

*Moskalyuk V.D., Andrushchak M.O., Sokolenko M.O.,
Balanyuk I.V., Boyko Y.I.* Features of kidney damage
in HIV-infected

Тепла І.В. Порівняльний аналіз маси плодів при
народженні при різних типах двієнь

Khairuddin Djawad, Dewi Anggraini.
The effectiveness of oral superoxide dismutase (SOD)
on total antioxidant status, transepidermal water loss
(TEWL) and sebum concentration in photo aging skin

Lehenchuk O.V., Plyska O.M. The condition of the
hard tissues of the teeth in children with acute forms of
leukemia

CONTENT

THEORETICAL MEDICINE

Panova T.I., Bortnikova A.K., Myronenko O.I.
Drinking and hedonic behavior of alcoholized rats

CLINICAL MEDICINE

*Shanko Y.G., Krivenko S.I., Goncharov V.V.,
Novitskaya V.V., Zamaro A.S., Tanin A.L., Nekhai M.A.,
Tokalchik Y.P., Novikova L.A., Kolyadich Z.V.,
Kulchitsky V.A.* Mesenchymal stem cells
in the complex treatment of traumatic brain injury

*Khaitovych M.V., Voroniuk L.M., Borisova
G.Yu., Diudenko NV., Miagka N.M.* Multisystem
inflammatory syndrome in children: diagnostic
markers and features
of pharmacotherapy

*Moskalyuk V.D., Andrushchak M.O., Sokolenko M.O.,
Balanyuk I.V., Boyko Y.I.* Features of kidney damage
in HIV-infected

Tepla I.V. Comparative analysis of the neonate birth
weight in different types of tin pregnancy

Khairuddin Djawad, Dewi Anggraini.
The effectiveness of oral superoxide dismutase (SOD)
on total antioxidant status, transepidermal water loss
(TEWL) and sebum concentration in photo aging skin

Lehenchuk O.V., Plyska O.M. The condition of the
hard tissues of the teeth in children with acute forms of
leukemia

ФАРМАЦІЯ

Putri D.E., Djamil R., Faizatun F. Body scrub virgin coconut oil, coffee grounds and carbon active coconut shell as a moisturizer and skin brightening

62

Зайченко Г.В., Тацький Ю.О. Простатопротекторний ефект екстракту маклюри та шляхи його реалізації

68

Стрига О. А., Зайченко Г. В., Савосько С.І., Сорокопуд К. Ю. Дослідження фармакологічних властивостей вагінального гелю з ресвератролом та гіалуроновою кислотою в умовах експериментального гіпоестрогенового стану у щурів

74

ФІЗИЧНА РЕАБІЛІТАЦІЯ

Sitovskiy A.M., Andriychuk O.Ya., Usova O.V., Yakobson O.O., Ulianytska N.Ya., Tsjupak T.E. Relationship between the functional reserve of the heart and the physical facility of adolescents of the special medical group

83

ПРОФІЛАКТИЧНА МЕДИЦИНА

Hozak S.V., Stankevych T.V., Yelizarova O.T., Parats A.N. Hygiene recommendations for saving health of children in the quarantine

93

ОГЛЯДИ

Ivanenko N. Biofilm and tumor: interpretation of interaction and treatment strategies. Review

104

Маланчук В.А., Топчий Д.В., Джавадиасл Афшин. Патогенез воспалительных осложнений после операции удаления зуба. Обзор

121

PHARMACY

Putri D.E., Djamil R., Faizatun F. Body scrub virgin coconut oil, coffee grounds and carbon active coconut shell as a moisturizer and skin brightening

Zaychenko G.V., Tatskiy Yu.O. Prostatoprotective effect of maclura pomifera oil extract and the way it is implemented

Stryha O. A., Zaychenko G.V., Savosko S. I., Sorokopud K.Y. The investigation of pharmacological properties of vaginal gel with resveratrol and hyaluronic acid in conditions of experimental hypoestrogenic state in rats

PHYSICAL REHABILITATION

Sitovskiy A.M., Andriychuk O.Ya., Usova O.V., Yakobson O.O., Ulianytska N.Ya., Tsjupak T.E. Relationship between the functional reserve of the heart and the physical facility of adolescents of the special medical group

PREVENTIVE MEDICINE

Hozak S.V., Stankevych T.V., Yelizarova O.T., Parats A.N. Hygiene recommendations for saving health of children in the quarantine

REVIEW

Ivanenko N. Biofilm and tumor: interpretation of interaction and treatment strategies. Review

Malanchuk V.O., Topchii D.V., Javadiasl A. Patogenetic aspect of studying inflammatory complications after a tooth extraction operation. Review

DRINKING AND HEDONIC BEHAVIOR OF ALCOHOLIZED RATS

¹ **Panova T.I.** <https://orcid.org/0000-0002-0298-802X>² **Bortnikova A.K.** <https://orcid.org/0000-0003-2145-6907>¹ **Myronenko O.I.** <https://orcid.org/0000-0001-5221-7218>*Bogomolets National Medical University, Ukraine**Maxim Gorky Donetsk National Medical University, Ukraine*

panova10000@gmail.com

Relevance. To relieve alcohol withdrawal syndrome, intravenous infusion of glucose and antidotes to neutralize ketone bodies are used. But after treatment, the craving for alcohol remains, and relapses of alcohol consumption are observed in 60-90% of patients. It remains unclear if there is a connection between hypoglycemia, ketosis, on the one hand, and the craving for alcohol consumption, on the other hand.

Objective: to find out the effect of glycemic level normalization and prolonged maintenance of normal blood glucose concentration on ethanol consumption in alcoholized rats. At the same time, we have chosen two alternative ways to eliminate hypoglycemia: 1) by providing animals with unlimited access to a water trough filled with glucose solution; 2) by forced feeding of animals with a high-carbohydrate diet.

Materials and methods. 70 rats were housed in the individual cages. First, two water troughs were placed in each cage for one week: first one was filled with pure water and another one contained 5% glucose solution. Second, forced alcoholization of rats was performed by leaving one trough filled with 10% ethanol solution in each cage. Duration of alcoholization was different: 3 weeks for the 1st group of rats (n=20), 6 weeks for the 2nd group of animals (n=20), and 16 weeks for the 3rd group of rats (n=20). Animals of the control group (n=10) received pure water. Third, after forced alcoholization, animals of the experimental groups had a free access to three different troughs for three weeks: the first trough was filled with pure water, the second one – with 5% glucose solution, and the third one contained 10% ethanol solution. Rats of the control group were able to choose between water and 5% glucose solution. At the third stage, animals of the experimental groups were divided into two subgroups with 10 rats in each one. Animals of one of the subgroups from each experimental group were kept on high-carbohydrate diet: they were administered 1 ml of 40% starch kissel (2.0 g/kg, in terms of glucose) *per os* 3 times a day. The volumes of all consumed fluids were recorded daily throughout the experiment. The results were processed using the *MedStat* program.

Results. Healthy rats drank 2.5 ± 0.6 ml of water and 1.6 ± 0.6 ml of glucose solution per 100 g of body weight daily. In the first 7 days of forced alcoholization, the animals drank 3.1 ± 0.7 ml of ethanol solution per 100 g of body weight. By the end of the third week, consumption of ethanol solution increased up to 4.9 ± 0.8 ml per 100 g of body weight ($p < 0.001$), which indicated development of adaptation. By the end of the sixth week, there was a prominent elevation of ethanol consumption up to 6.4 ± 0.9 ml per 100 g of body weight, and the total volume of consumed alcohol solutions was 1.3 times higher than that of the third week ($p < 0.001$). At the sixth week of observation, alcohol intake reached its climax, since further alcoholization up to 16 weeks did not lead to any changes in drinking behavior ($p = 0.712$). We consider that the minimal duration of forced alcoholization is 6 weeks. During the process of alcoholization, the total daily consumption of fluids by animals was increasing, compared to healthy rats, and, by the end of the 16th week, it exceeded the indicator of healthy rats by 1.8 times. In alcoholized rats, glucose loses its hedonic properties. By the end of the 16th week of alcoholization, under condition of free choice of drinks, glucose consumption was 8 times lower than that of in healthy animals. Rats consumed less ethanol if they were receiving additional high-carbohydrate diet. The duration of metabolic correction with a starch solution is important: the longer it is, the less alcohol craving will be.

Conclusions. Alcohol-dependent rats reject the glucose solution offered as a drink. But prolonged and forced administration of glucose leads to a decrease in alcohol consumption.

Keywords: alcoholized rats, hypoglycemia, loss of hedonic properties of glucose, forced correction of glycemia.

Relevance. Alcoholism is characterized by hypoglycemia, which develops because of inhibition of gluconeogenesis in the liver. The metabolism of brain cells is rearranged to utilize ketone bodies, which are excessively produced from acetyl-CoA in the liver. Ketone bodies are high-energy fuel molecules. Oxidation of one molecule of beta-hydroxybutyrate results in generation of 26 ATP molecules. The initiation of ketone bodies production occurs due to the shift of the NADPH/NADP ratio towards the excess of NADPH. In turn, the shift towards NADPH accumulation is the re-

sult of the increased activity of alcohol dehydrogenase in the presence of high concentration of ethanol. Therefore, alcoholic ketosis is considered to be an adaptive response to hypoglycemia. [1, 5, 9, 14]. Alcohol ketosis is suspected to occur significantly more often than it is diagnosed [1, 5, 9, 14]. In studies on alcoholized rats, we also recorded pronounced ketosis [10].

However, when ketosis reaches high levels, it turns from a useful adaptive reaction into pathological one. In high concentration, ketone bodies have a number of negative effects: metabolic acidosis, up to

decompensated stage; high osmotic activity, leading to tissue dehydration; decreased oxygen binding by hemoglobin; ionization of functional groups of blood plasma proteins, leading to changes of their conformation and function; neurotoxicity (nausea, vomiting, malaise, headache) [5, 11]. Therefore, antidotes that neutralize ketone bodies are used in the treatment of alcohol withdrawal syndrome [3, 11]. At the same time, it is noted that suppression of ketosis is impossible to reach by a single administration of the antidote. That is why, to achieve a satisfactory effect, therapeutic regimens include two- and three-week courses. Simultaneously, intravenous glucose infusion is used to improve brain nutrition [3, 11]. Nevertheless, after the end of treatment, relapses of alcohol consumption are observed in 60-90% of patients, according to various sources [2, 6, 12]. This suggests a link between hypoglycemia, ketosis, on the one hand, and craving for alcohol consumption, on the other hand.

Objective: to find out how the elimination of hypoglycemia and long-term maintenance of normal glycemic level will affect the craving for ethanol consumption in alcohol-dependent rats.

At the same time, we have chosen two alternative ways to eliminate hypoglycemia: 1) by providing animals with unlimited access to a water trough filled with glucose solution; 2) by forced administration of starch per os.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out on 70 rats of both sexes weighing 200-350 g. The animals were kept in a vivarium with forced ventilation in the autumn-winter period. The temperature was maintained at the level of 18-22 °C, which excluded excessive thirst. Rats were housed in the individual cages with free access to food. Food composition was given a lot of attention and kept constant in order to achieve a stable drinking behavior without provoking an excessive thirst for salty food or, conversely, refusal to drink due to the consumption of large amount of juicy fruits and vegetables.

The experiment was performed in three stages. However, access to drinking was not always the same.

At the first stage, two water troughs were placed in each cage for one week. The first troughs were filled with pure water and another one contained 5% glucose solution, so the rats had a free choice of drinking. The volume of drunk fluid from each trough was recorded daily. In this way, the hedonic properties of glucose were determined for each animal. Measurement accuracy was 0.5 ml (graduation scale on the trough was 0.5 ml).

Then, at the second stage, forced alcoholization was carried out for several weeks: there was only one trough with 10% ethanol solution in each cage. Duration of

alcoholization was different: 3 weeks for the 1st group of rats (n=20), 6 weeks for the 2nd group of animals (n=20), and 16 weeks for the 3rd group of rats (n=20). Animals of the control group (n=10) received pure water.

At the third stage, after the end of the specified period of forced alcoholization, the animals of the experimental groups had a free access to three different troughs for three weeks: the first trough was filled with pure water, the second one contained 5% glucose solution, and the third one had 10% ethanol solution inside. The criterion for the formed alcohol addiction was the preference for ethanol. Since the animals differed in weight, the volume of drunk liquids was calculated per 100 g of body weight. Rats of the control group had a choice between pure water and 5% glucose throughout these three weeks.

In addition, at the third stage of the experiment, each of the experimental groups was divided into two subgroups with 10 animals in each one. All rats were injected with 1.0 ml of liquid per os three times a day, with an interval of 5 hours, from a syringe without a needle. Animals of the first subgroups received 0.9% sodium chloride, and the animals of the second subgroups were given 40% boiled starch kissel (2.0 g/kg, in terms of glucose). The choice of starch was determined by the properties of this complex polysaccharide with a branched chain. It is broken down in the gastrointestinal tract for a long time, and the formed glucose is absorbed gradually, which ensures the maintenance of a stable level of glucose in the blood for a long period and does not provoke an overload to the insular apparatus.

The experimental results were processed using the MedStat program.

Since the distribution of the values of drunk liquid volumes did not differ from the normal one, parametric methods of statistical analysis were used. To present the data in the work, the average value of the drunk liquid volume $\bar{X}$ (ml/100 g) and the standard deviation s (ml/100 g) are given.

In the analysis of variance, multiple comparisons were performed using the Scheffe's test to determine the differences in means between groups and inside each group at different periods of time. Paired comparisons of the means in the samples were carried out using the Student's test, and comparisons with the control group were performed using the Dunnett's test.

During the experiments, we followed all the regulations and principles approved by the Decree of the First National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001); by the Law of Ukraine No. 3447-IV "About protection of animals from cruel treatment" (February 21, 2006), with amendments No. 1759-VI (December 15, 2009); by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Scientific and Other Purposes (Strasbourg, 1986).

RESULTS AND DISCUSSION

Before the start of the experiment, rats drank, on average, 2.5 ± 0.6 ml of pure water per 100 g of body weight daily. For each animal, the range between the minimal and maximal volumes of water consumption was less than 2.3 ml per 100 g of body weight, which indicated a stable drinking behavior determined by the balanced diet. In addition, the animals drank 1.6 ± 0.6 ml of glucose solution per 100 g of body weight daily. It has to be emphasized that the animals consumed the glucose solution when there was an excess of pure water in the cage. This indicates the hedonic properties of glucose. The total volume of drunk liquid averaged 3.9 ± 1.1 ml per 100 g of animal weight. The data of the drinking regimen in rats before alcoholization and by the end of forced alcoholization periods is presented in Table 1.

The ethanol consumption during forced alcoholization was as follows. In the first seven days, the animals drank, on average, 3.1 ± 0.7 ml of ethanol solution per 100 g of body weight. We consider that the slight decrease in the total amount of drunk liquid can be explained by the unpleasant taste of ethanol for rats (before alcoholization, it was 3.9 ± 1.1 ml of pure water and glucose solution per 100 g of body weight).

According to the results shown in Table 1, further analysis of the drinking regimen of rats suggested that changes in cell metabolism were accumulating not in linear, but abrupt manner during alcoholization. Our observations showed that this elevation approximately occurred at the third and sixth weeks of alcoholization, because the most significant changes in drinking behavior were noted during these particular periods (according to the volume of consumed ethanol and glucose solutions).

By the end of the third week, the volume of consumed ethanol solution increased up to 4.9 ± 0.8 ml per 100 g of body weight ($p < 0.001$), which probably indicated development of adaptation.

By the end of the sixth week, there was another peak in the consumption of ethanol solution: up to 6.4 ± 0.9 ml per 100 g of animal weight. On average, the volume of drunk liquids increased by 1.3 times ($p < 0.001$), compared with the indicator of the third week.

At the same time, during the experiment, it was noted that alcohol intake reached its climax, since further alcoholization up to 16 weeks did not lead to any principal changes in drinking behavior. When comparing the average volumes of ethanol solution drunk by rats from week to week, up to the sixteenth week of observation, the level of alcohol consumption remained stable. And when comparing the volumes of alcohol consumed at the end of the sixth and sixteenth weeks, no statistically significant differences were found ($p = 0.712$). The stable consumption of ethanol solution during this period indicated the formed alcohol adaptation/preference/addiction.

Our attention was drawn to the fact of time-dependent manner in climax formation of alcohol consumption. It happened by the end of the sixth week of forced alcoholization. In our opinion, this can be the rationale for the minimal time period required for forced alcoholization development. Changes in the consumption of ethanol and glucose solutions during forced alcoholization are shown in Figure 1, A.

During the process of alcoholization, the daily total consumption of liquids by rats was increasing, compared to healthy rats. By the end of the sixteenth week, it exceeded the parameter of healthy animals by 1.8 times (Fig. 2, B). The increased thirst was probably caused by the osmotic properties of ethanol and its metabolite, acetaldehyde.

Table 1

The volume of consumed liquids in condition of free choice and at different periods of forced alcoholization of rats

Group of animals	The volume of drunk liquid, ml			
	Pure water	5% glucose solution	10% ethanol solution	Total volume
Healthy rats before alcoholization (n=70)	2.5 ± 0.6	1.6 ± 0.6	-	3.9 ± 1.1
The 1st experimental group (n=20), alcoholization for 3 weeks	0.7 ± 0.6 *	1.1 ± 0.4 *	4.9 ± 0.8	6.7 ± 0.8 *
The 2nd experimental group (n=20), alcoholization for 6 weeks	0.5 ± 0.4	0.7 ± 0.4 #	6.4 ± 0.9 #	7.0 ± 0.9
The 3rd experimental group (n=20), alcoholization for 16 weeks	0.5 ± 0.5	0.2 ± 0.2 @	6.5 ± 0.6	7.1 ± 0.7
The control group (n=10), after 3, 6 and 16 weeks	2.5 ± 0.6	1.6 ± 0.6	-	3.9 ± 1.1

Note: * - statistically significant difference ($p < 0.001$), compared to the parameters of healthy rats; # - statistically significant difference ($p < 0.001$), compared to the parameters of the 1st group; @ - statistically significant difference ($p < 0.001$), compared to the parameters of the 2nd group.

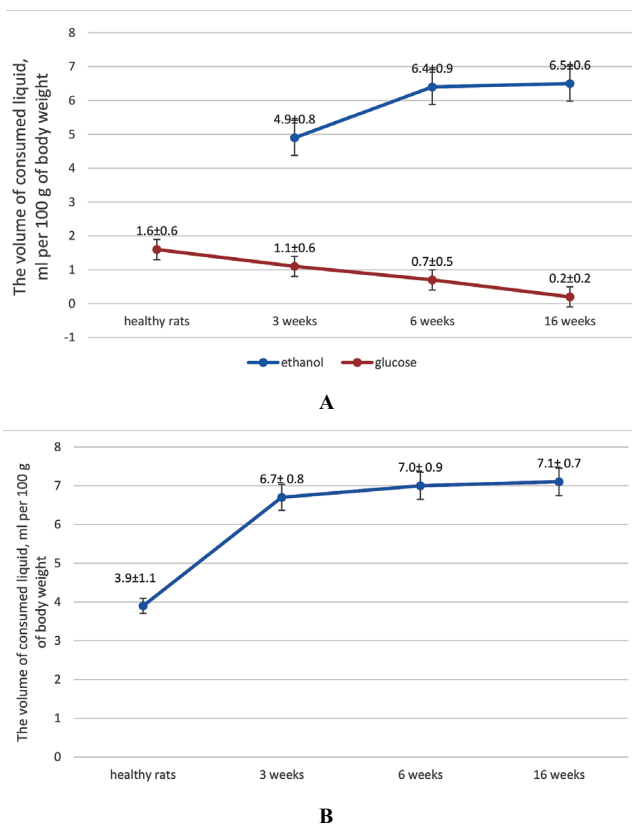


Fig. 1. Dynamics of 5% glucose and 10% ethanol solutions consumption (A) and the total volume of consumed liquids (B) at different periods of forced alcoholization.

Horizontal axis includes periods of forced alcoholization: healthy rats before alcoholization; 3 weeks, 6 weeks, and 16 weeks of alcoholization.

Vertical axis represents the volumes of consumed alcohol: per 100 g weight of the animal (ml/100 g), $\bar{X} \pm s$.

Observations of glucose consumption have shown that in alcoholized rats, glucose loses its hedonic properties. The conclusion was made due to reduced glucose preference by alcoholized rats, compared to healthy animals. Our results are consistent with the data of other researchers who showed that in rats with a formed alcohol addiction, the preference for alcohol intake did not decrease when there was a free choice between alcohol and pure water sweetened with sugar [7, 13]. The experiment has revealed that the duration of alcoholization, and, consequently, the degree of alcoholization affect the volume of consumed glucose solution. The longer alcoholization lasted (3, 6 or 16 weeks), the less volume of glucose solution was consumed by animals under condition of free choice. Table 1 indicates that the level of glucose consumption significantly decreases when comparing the volumes of drunk glucose solutions in different reporting periods. Thus, by the end of the 16th week of alcoholization, under condition of free choice, the glucose consumption is, on average, 8 times lower than that of healthy animals. This dynamic is clearly represented in Figure 1.

So, why has an alcoholized rat stopped enjoying such a delicious glucose? After all, glucose is a favorite

delicacy for almost all mammals for the reason that it is probably the only nutrient substrate for brain cells. We suggest that the answer to the question may be a decrease in the functional activity of glycolysis enzymes. According to the general biological principle of feedback loop, a decrease of the substrate level inevitably leads to a decrease in both the activity and the number of enzymes for this substrate. In the absence of glucose, the metabolism of neurons is rearranged to the synthesis of macroergic molecules by the oxidation of ketone bodies. And we assume that as a result of prolonged alcoholization, the brain not only switches its metabolism to nutrition with ketone bodies, but also loses the ability to utilize glucose. That is why, “being unnecessary”, glucose loses its hedonic properties for alcoholized animals.

Ethanol stimulates the synthesis of ketone bodies in the liver. The liver biochemistry creates a vicious circle: excess of ethanol leads to hypoglycemia → hypoglycemia leads to ketosis → ketosis requires ethanol [1, 5, 9]. Ketone bodies become the only stable nutrient for the brain. That is why alcoholized rats probably “require” only ketone bodies and refuse glucose, regardless of the degree of hypoglycemia.

We propose to look at the problem of alcohol addiction in this way: the essence of alcoholism is not a dependence on ethanol, but on ketone bodies.

After the termination of alcoholization, the drinking behavior of the animals was observed for another three weeks. The volume of consumed liquid in all groups and subgroups was different (Tables 2-4). This depended on three factors:

- on the duration of preliminary forced alcoholization;
- on the time elapsed after the end of forced alcoholization;
- on the forced administration of a starch solution per os.

Analyzing of the data in Tables 2-4, we are able to make a number of assumptions.

When comparing the levels of glucose consumption in one reporting period, in the second subgroups of experimental groups 1 and 2, they were significantly less than the same indicators in the first subgroups. It is obviously related to the fact that the rats of the second subgroups were additionally receiving glucose (a starch solution) per os.

Probably, for the same reason, the total consumption of all types of liquids was always lower in animals of the second subgroups.

Water consumption in the same reporting period was always higher in rats of the second subgroups. Obviously, it was caused by the osmotic activity of glucose, added in the form of a starch solution per os.

Under other equal conditions (the same duration of alcoholization, its termination, free access to all types of drinking), the consumption of ethanol in the

Table 2

The volumes of consumed liquid by rats in 3 weeks of forced alcoholization of the 1st experimental group, under the condition of free choice

Sub-group	Drinking conditions	Weeks after the end of alcoholization	The volume of drunk liquid, ml			
			Pure water	5% glucose	10% ethanol	Total volume
1st, n=10	Free choice and 0.9% NaCl per os	One	0,6±0,7	1,1±0,6	4,9±0,7	6,6±0,9
		Two	0,6±0,5	1,5±0,5	4,4±0,4	6,7±0,6
		Three	1,0±0,6	1,7±0,4	3,9±0,5	6,7±1,0
2nd, n=10	Free choice and a starch solution per os	One	2,1±0,4	0,8±0,4 *	2,1±0,7 *	5,4±0,8
		Two	2,7±0,8	0,6±0,5 *	1,2±0,6 *#	4,5±0,7 *
		Three	3,2±0,5	0,7±0,6 *	0,6±0,4 *@	4,5±0,8 *

*Notes for tables 2-4: * - statistically significant difference ($p<0.001$), compared to the parameters of the 1st group at the same time period; # - statistically significant difference ($p<0.001$), compared to the parameters of the 2nd subgroup in one week after alcoholization; @ - statistically significant difference ($p<0.001$), compared to the parameters of the 2nd subgroup in two weeks after alcoholization.*

Table 3

The volumes of consumed liquid by rats in 6 weeks of forced alcoholization of the 2nd experimental group, under the condition of free choice

Sub-group	Drinking conditions	Weeks after the end of alcoholization	The volume of drunk liquid, ml			
			Pure water	5% glucose	10% ethanol	Total volume
1st, n=10	Free choice and 0.9% NaCl per os	One	0,5±0,4	0,7±0,5	6,4±0,8	7,0±0,6
		Two	0,8±0,7	0,5±0,8	5,9±0,8	6,5±1,0
		Three	1,0±0,7	0,7±0,7	6,1±0,5	6,4±0,8
2nd, n=10	Free choice and a starch solution per os	One	1,6±0,5	0,4±0,6 *	3,9±0,6 *	5,6±0,8 *
		Two	1,7±0,7	0,3±0,6 *	2,1±0,5 *#	4,3±0,7 *
		Three	2,1±1,0	0,4±0,5 *	1,9±0,5 *@	4,4±0,9 *

Table 4

The volumes of consumed liquid by rats in 16 weeks of forced alcoholization of the 3d experimental group, under the condition of free choice

Sub-group	Drinking conditions	Weeks after the end of alcoholization	The volume of drunk liquid, ml			
			Pure water	5% glucose	10% ethanol	Total volume
1st, n=10	Free choice and 0.9% NaCl per os	One	0,8±0,3	0,2±0,2	6,5±0,6	7,1±0,8
		Two	0,9±0,5	0,2±0,1	6,3±0,4	7,0±0,5
		Three	0,9±0,4	0,3±0,1	6,4±0,5	7,1±0,7
2nd, n=10	Free choice and a starch solution per os	One	1,2±0,6	0,1±0,1	5,5±0,6	5,9±0,8 *
		Two	1,4±0,4	0,1±0,1	3,1±0,6 *#	4,9±0,7 *
		Three	1,6±0,5	0,2±0,2	2,7±0,7 *@	4,7±0,9 *

second subgroups decreased to a greater extent than in the first ones within three weeks. Thus, at the second week of metabolic correction of glycemic level (and even at the first week in groups 1 and 2), the level of ethanol consumption in the second subgroups of all experimental groups significantly decreased, compared to the same parameters of the first subgroups (in which the rats did not receive a starch solution).

Moreover, the duration of metabolic correction with a starch solution matters: the longer it is, the

less craving for alcohol will be. This can be seen from the dynamics of ethanol consumption within the second subgroups from the first to the third week of observation. By the end of the second week of alimentary correction, the level of ethanol consumption in the second subgroups of all experimental groups decreased ($p<0.001$), compared to the same indicators in the first week. By the end of the third week, the ethanol consumption was lower than in the second week ($p<0.001$).

The obtained data allows us to suggest that the forced excess of glucose in the body (due to alimentary correction of glycemic level) helps to restore the activity of glycolysis enzymes. Under this condition, ketone bodies become “unnecessary”. Therefore, there is no need for ethanol as a ketone formation stimulator.

Our conclusion is consistent with studies in which the use of appetite-enhancing drugs led to an increase in food intake and a decrease in alcohol consumption in patients in a state of withdrawal [8]. And additional physical activity (and, consequently, an increase in glycemia – author’s note) reduces the risk of relapse of alcohol consumption [12].

From the proposed position, it is quite easy to explain the direct effect of forced alcoholization duration (and, consequently, the degree of alcoholization) on level of glucose consumption (of hedonic significance): the longer alcoholization (3, 6 and 16 weeks) lasts, the less glucose will be consumed by rats under condition of free choice (Fig. 1).

The similar conclusions were drawn by the other researchers. Thus, they state that hedonic stimuli probably act as irritants for the rewarding system only in a healthy brain or in the early stages of addiction formation, but completely lose their significance as stimuli at later stages of addiction [7, 13]. Alcoholized animal models show a decrease in the importance of both vital and behavioral components of life that have hedonic significance [4].

CONCLUSIONS

Alcohol-dependent rats reject the glucose solution offered as a drink. But prolonged and forced administration of glucose leads to a decrease in alcohol consumption.

REFERENCES

1. Andersen L.V., Bruun J.M. [Alcoholic ketoacidosis]. *Ugeskr Laeger*. 2019 Jun 3;181(23):V01190001. [in Danish]. View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31267934/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/31267934>
2. Edelman E.J., Fiellin D.A. In the Clinic. Alcohol Use. *Ann Intern Med*. 2016 Jan 5;164(1):ITC1-16. DOI: 10.7326/aitc201601050 View at: Publisher Site: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/AITC201601050> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26747315/>
3. Gensburger M., Ghuysen A. [Pharmacotherapy of most severe forms of alcohol withdrawal]. *Rev Med Liege*. 2019 May;74(5-6):365-372. [in French]. View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31206282/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/31206282>
4. Goltseker K., Hopf F.W., Barak S. Advances in behavioral animal models of alcohol use disorder. *Alcohol*. 2019 Feb;74:73-82. DOI: 10.1016/j.alcohol.2018.05.014 View at: Publisher Site: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0741832918301046?via%3Dihub> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30424979/>
5. Höjer J. [Alcoholic ketoacidosis – a review]. *Lakartidningen*. 2017 Oct 3;114:EP6D. [in Swedish]. View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28994854/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/28994854>
6. Koenig L.B., Haber J.R., Jacob T. Transitions in alcohol use over time: a survival analysis. *BMC Psychol*. 2020 Nov 3;8(1):115. DOI: 10.1186/s40359-020-00479-1. View at: Publisher Site: <https://bmcpublishing.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40359-020-00479-1> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33143748/> Europe PMC: https://europepmc.org/articles/pmc7607670/bin/40359_2020_479_moesml_esm.docx
7. Lesscher H.M., Houthuijzen J.M., Koerkamp M.J.G., Holstege F.C.P., Vanderschuren L.J.M.J. Amygdala 14-3-3ζ as a novel modulator of escalating alcohol intake in mice. *PLoS One*. 2012; 7(5): e37999. DOI: 10.1371/journal.pone.0037999. View at: Publisher Site: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0037999> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22629472/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358291/>
8. Mansoor K., Qadan F., Hinum A., Schneider C., Hechenbichler K., Schmidt M., Linsinger G., Matalka K. An open prospective pilot study of a herbal combination “Relief” as a supportive dietetic measure during alcohol withdrawal. *Neuro Endocrinol Lett*. 2018 Mar; 39(1):1-8. View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29604618/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/29604618>
9. McGuire L.C., Cruickshank A.M., Munro P.T. Alcoholic ketoacidosis. *Emerg Med*. 2006 Jun; 23(6):417-20. DOI: 10.1136/emj.2004.017590. View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16714496/> PubMed Central: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc2564331/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/pmc/pmc2564331>
10. Panova T.I., Bortnikova A.K. Ketosis Level as a Factor Determining Addictive Behavior of Alcoholized Rats. *Neurophysiology*. 2016; 48(4): 252-258. DOI: 10.1007/s11062-016-9596-4 View at: Publisher Site: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11062-016-9596-4>
11. [Psychiatry and narcology / Edited by Professor OK Napreyenko / Kyiv: Medicine, 2017: 211-222. [in Ukrainian].

- View at: MedPublish: <https://www.medpublish.com.ua/psihiatrija-i-narkologija-pidruchnik-vnz-v-r-a-gt-sonnik-ok-napryeyenko-am-skripnikov-ta-in-za-red-ok-napryeyenka-3ye-vid-vipr/p-705.html?language=ru>
12. Thompson T.P., Taylor A.H., Wanner A., Husk K., Wei Y., Creanor S., Kandiyali R., Neale J., Sinclair J., Nasser M., Wallace G. Physical activity and the prevention, reduction, and treatment of alcohol and/or substance use across the lifespan (The PHASE review): protocol for a systematic review. *Syst Rev.* 2018 Jan 22;7(1):9. DOI: 10.1186/s13643-018-0674-0
View at: Publisher Site: <https://systematicreviewsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13643-018-0674-0>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29357931/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5778642/>
 13. Vendruscolo L.F., Barbier E., Schlosburg J.E., Misra K.K., Whitfield T.W., Logrip M.L., Rivier C., Repunte-Canonigo V., Zorrilla E.P., Sanna P.P., Heilig M., Koob G.F. Corticosteroid-dependent plasticity mediates compulsive alcohol drinking in rats. *J. Neurosci.* 2012; 32(22): 7563-71. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0069-12.2012
View at: Publisher Site: <https://www.jneurosci.org/content/32/22/7563>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22649234/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3375621/>
 14. Yokoyama A., Yokoyama T., Mizukami T., Matsui T., Shiraishi K., Kimura M., Matsushita S., Higuchi S., Maruyama K. Alcoholic Ketosis: Prevalence, Determinants, and Ketohepatitis in Japanese Alcoholic Men. *Alcohol Alcohol.* 2014 Nov; 49(6):618-25. DOI: 10.1093/alcalc/agu048.
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/alcalc/article/49/6/618/2888130>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25085997/>

Article history
Received: 25.12.2020
Revision requested: 16.01.2021
Revision received: 28.02.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

ПИТНА ТА ГЕДОНІЧНА ПОВЕДІНКА АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ

¹Панова Т.І., ²Бортнікова А.К., ¹Міроненко О.І.

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

² Донецький національний медичний університет імені М. Горького, Україна

panova10000@gmail.com

Актуальність. Для купірування алкогольного абстинентного синдрому застосовують внутрішньовенну інфузію глюкози і антидоти, що нейтралізують кетонів тіла. Але після лікування все одно зберігається потяг до алкоголю, і рецидиви вживання алкоголю спостерігаються у 60-90% хворих. Залишається нез'ясованим питання, чи існує зв'язок між гіпоглікемією, кетозом, з одного боку, і потягом до алкоголю, з іншого.

Мета: з'ясувати, як впливає на споживання етанолу у алкоголізованих щурів усунення гіпоглікемії і тривале підтримання глікемії на рівні норми. При цьому ми вибрали два альтернативні способи усунення гіпоглікемії: 1) надання тваринам вільного необмеженого доступу до поїлки з глюкозою; 2) примусове посилене вуглеводне харчування.

Матеріали та методи. 70 щурів містили по одному в клітці. На першому етапі, протягом одного тижня, в кожному клітині були поміщені по дві поїлки – з чистою водою і 5% глюкозою. На другому етапі проводили примусову алкоголізацію: в кожній клітині була тільки одна поїлка – з 10% етанолом. Терміни алкоголізації були різними: для щурів 1-ї групи (n = 20) – 3 тижні, 2-ї групи (n = 20) – 6 тижнів, 3-ї групи (n = 20) – 16 тижнів. Тварини контрольної групи (n = 10) в якості пиття отримували воду. На третьому етапі, після закінчення примусової алкоголізації, у тварин протягом трьох тижнів був вільний вибір між водою, 5% глюкозою, 10% етанолом, а у контрольних щурів – вибір між водою і 5% глюкозою. На третьому етапі кожному з експериментальних груп розділили на дві підгрупи: по 10 особин у кожній підгрупі. Тварин другої підгруп містили на посиленому вуглеводному харчуванні: 3 рази на день *per os* вводили 1 мл 40% крохмального киселю (в перерахунок на глюкозу – це 2,0 г / кг). Протягом усього експерименту щодня реєстрували кількість випитого пиття всіх видів. При обробці результатів використовували пакет *MedStat*.

Результати. Здорові щури щодня випивали води по $2,5 \pm 0,6$ мл / 100 г ваги, і глюкози – по $1,6 \pm 0,6$ мл / 100 г ваги. У перші 7 днів примусової алкоголізації тварини випивали алкоголю по $3,1 \pm 0,7$ мл / 100 г ваги. До кінця 3 тижня кількість споживаного етанолу зросла ($p < 0,001$) до $4,9 \pm 0,8$ мл / 100 г ваги, що свідчить про адаптацію. До кінця 6 тижнів стався «стрибок» споживання розчину етанолу – до $6,4 \pm 0,9$ мл / 100 г ваги тварини. Кількість випитого, в порівнянні з показниками на 3 тижні, зросла в 1,3 рази ($p < 0,001$). Споживання алкоголю на 6 тижні було «стелею», оскільки подальше продовження терміну алкоголізації (аж до 16 тижнів) змін в питному поведінці не спричинило ($p = 0,712$). Вважаємо, що 6 тижнів – це мінімальний термін примусової алкоголізації. В процесі алкоголізації, щодобове загальне споживання пиття в порівнянні зі здоровими щурами збільшувалася, і до кінця 16 тижня перевищило показники здорових тварин в 1,8 рази. У алкоголізованих щурів глюкоза втрачає свої гедонічні властивості. До кінця 16 тижня алкоголізації споживання глюкози в умовах вільного вибору у 8 разів нижче, ніж у здорових тварин. Щури, які отримували додаткове посилене вуглеводне харчування, споживали етанолу менше. Тривалість метаболічної корекції розчином крохмалю має значення: чим вона триваліша, тим менше потяг до алкоголю.

Висновки. Алкоголізовані щури відкидають запропоновану в питво глюкозу. Але тривале примусове введення глюкози сприяє зменшенню споживання етанолу.

Ключові слова: алкоголізовані щури, гіпоглікемія, втрата гедонічних властивостей глюкози, примусова корекція глікемії.

ПИТЬЕВОЕ И ГЕДОНИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС

¹Панова Т.И., ²Бортникова А.К., ¹Мироненко О.И.

¹ Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Украина

² Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького, Украина

panova10000@gmail.com

Актуальность. Для купирования алкогольного абстинентного синдрома применяют внутривенную инфузию глюкозы и антидоты, нейтрализующие кетоновые тела. Но после лечения всё равно сохраняется влечение к алкоголю, а рецидивы употребления алкоголя наблюдаются у 60-90 % больных. Остаётся невыясненным вопрос, существует ли связь между гипогликемией, кетозом, с одной стороны, и влечением к алкоголю, с другой.

Цель: выяснить, как влияет на потребление этанола у алкоголизованных крыс устранение гипогликемии и длительное поддержание гликемии на уровне нормы. При этом мы выбрали два альтернативных способа устранения гипогликемии: 1) предоставление животным свободного неограниченного доступа к поилке с глюкозой; 2) принудительное усиленное углеводное питание.

Материалы и методы. 70 крыс содержали по одной в клетке. На первом этапе, в течение одной недели, в каждую клетку были помещены по две поилки – с чистой водой и 5 % глюкозой. На втором этапе проводили принудительную алкоголизацию: в каждой клетке была только одна поилка – с 10 % этанолом. Сроки алкоголизации были разными. Для крыс 1-й группы (n = 20) – 3 недели, 2-й группы (n = 20) – 6 недель, 3-й группы (n = 20) – 16 недель. Животные контрольной группы (n = 10) в качестве питья получали воду. На третьем этапе, после окончания принудительной алкоголизации, у животных в течение трёх недель был свободный выбор между водой, 5% глюкозой, 10% этанолом. А у контрольных крыс – выбор между водой и 5 % глюкозой. На третьем этапе каждую из экспериментальных групп разделили на две подгруппы: по 10 особей в каждой подгруппе. Животных вторых подгрупп содержали на усиленном углеводном питании: 3 раза в день per os вводили 1 мл 40 % крахмального киселя (в пересчёте на глюкозу – это 2,0 г/кг). На протяжении всего эксперимента ежедневно регистрировали количество выпитого питья всех видов. При обработке результатов использовали пакет *MedStat*.

Результаты. Здоровые крысы ежедневно выпивали воды по $2,5 \pm 0,6$ мл/100 г веса, и глюкозы – по $1,6 \pm 0,6$ мл/100 г веса. В первые 7 дней принудительной алкоголизации животные выпивали алкоголя по $3,1 \pm 0,7$ мл/100 г веса. К концу 3 недели количество потребляемого этанола возросло ($p < 0,001$) до $4,9 \pm 0,8$ мл/100 г веса, что свидетельствует об адаптации. К концу 6 недели произошел «скачок» потребления раствора этанола – до $6,4 \pm 0,9$ мл/100 г веса животного. Количество выпитого, по сравнению с показателями на 3 неделе, возросло в 1,3 раза ($p < 0,001$). Потребление алкоголя на 6 неделе было «потолком», поскольку дальнейшее удлинение срока алкоголизации (вплоть до 16 недель) изменений в питьевом поведении не повлекло ($p = 0,712$). Полагаем, что 6 недель – это минимальный срок принудительной алкоголизации. В процессе алкоголизации, ежедневное общее потребление питья по сравнению со здоровыми крысами увеличивалось, и к концу 16 недели превысило показатели здоровых животных в 1,8 раза. У алкоголизованных крыс глюкоза утрачивает свои гедонические свойства. К концу 16 недели алкоголизации потребление глюкозы в условиях свободного выбора в 8 раз ниже, чем у здоровых животных. Крысы, получавшие дополнительное усиленное углеводное питание, потребляли этанола меньше. Продолжительность метаболической коррекции раствором крахмала имеет значение: чем она длительнее, тем меньше влечение к алкоголю.

Выводы. Алкоголизованные крысы отвергают предлагаемую в питье глюкозу. Но продолжительное принудительное введение глюкозы способствует уменьшению потребления этанола.

Ключевые слова: алкоголизованные крысы, гипогликемия, утрата гедонических свойств глюкозы, принудительная коррекция гликемии.

MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE COMPLEX TREATMENT OF TRAUMATIC BRAIN INJURY

¹Shanko Y.G. <https://orcid.org/0000-0002-4633-0369>²Krivenko S.I. <https://orcid.org/0000-0002-6813-4465>³Goncharov V.V. <https://orcid.org/0000-0003-3560-7892>¹Novitskaya V.V. <https://orcid.org/0000-0003-4603-0275>⁴Zamaro A.S. <https://orcid.org/0000-0002-9938-7203>¹Tanin A.L. <https://orcid.org/0000-0003-2449-2129>¹Nekhai M.A. <https://orcid.org/0000-0002-4134-9570>⁴Tokalchik Y.P. <https://orcid.org/0000-0001-9668-8011>¹Novikova L.A. <https://orcid.org/0000-0003-4733-6735>⁵Kolyadich Z.V. <https://orcid.org/0000-0002-7775-3540>⁴Kulchitsky V.A. <https://orcid.org/0000-0003-1223-646X>¹Republican Scientific and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus²9th City Clinical Hospital, Minsk, Belarus³City Clinical Hospital of Emergency Care, Minsk, Belarus⁴Institute of Physiology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus⁵State Institution "N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus", Lesnoy, Minsk District, Belarus

vladi@fizio.bas-net.by

Relevance. The problem of effective prevention and treatment of traumatic brain injuries (TBI) of various etiologies has not been resolved in all countries of the world. Primary brain damage from trauma initiates secondary damage to the nervous tissue. As a result, the interaction of brain neural networks is disrupted and the control of somatic and visceral functions of the body is weakened. The article is based on our own clinical observations and comparison of results with literature data and provides discussion of the prospects for the use of cell technologies in prevention of fatal disorders of vital functions control in traumatic brain injuries.

Objective. To evaluate effectiveness of intranasal perineural implantation of mesenchymal stem cells (MSCs) in the complex therapy of patients with TBI.

Materials and methods. The technique intranasal perineural administration of MSCs was used in complex therapy of 15 patients with severe TBI. The patients were 19–69 years old, 13 men and two women. A cell suspension was isolated from the adipose tissue of patient's abdominal wall and centrifuged for 10 min at 1500 rpm. The cell pellet was washed in phosphate buffered saline and DMEM. Cells were cultured in plastic culture flasks in humidified atmosphere with 5% CO₂ content. The cell mass was trypsinized according to standard technique and resuspended in physiological saline on the day of implantation. Dynamics of culture growth, pluripotency, phenotyping of MSCs were monitored. MSCs were injected under general anesthesia into the submucosa of nasal cavity 3–4 times with an interval of 3–7 days, depending on the growth rate of MSCs, in a single dose from 12.0×10⁶ to 35.0×10⁶ cells.

Results. The use of allogeneic and predominantly autologous MSCs of adipose tissue in the complex treatment of patients with severe TBI by intranasal perineural delivery to the area of traumatic brain injury does not cause complications and is a safe technique. 8 patients with severe TBI showed from 4 to 7 points according to the Glasgow Outcome Scale Extended, with an average of 5.4±1.1 points after 6 months. The main result is that complex therapy, including intranasal implantation of MSCs in acute and subacute periods of severe TBI, contributes to survival of patients and restoration of neurological – including cognitive – functions control.

Conclusions. The effectiveness of intranasal perineural implantation of MSCs in the complex therapy of patients with TBI has been demonstrated. The mechanisms of the beneficial effects of perineural implantation of MSCs in patients with TBI require further research.

Keywords: traumatic brain injury, patients, cell therapy, intranasal technique, mechanisms.

Relevance. Traumatic brain injury (TBI) is currently one of the socially significant health problems in the world. TBI accounts for 9% of population deaths and about one third of all deaths from external causes. Injury, homicide and suicide are the leading causes of death in the US and EU in people under 45 years of age [1]. Every year in the world about 10 million people receive TBI, which leads to hospitalization or death [2]. TBI is sometimes called a "quiet epidemic" due to the growing scale of this problem and low public awareness of significance of the consequences [3].

Primary brain injury in TBI provokes secondary brain damage that develops as a cascade of multiple pathophysiological mechanisms, including cytotoxicity, gene activation, oxidative response, cerebral edema, and inflammation [2]. Functional restoration of damaged neuronal and glial structures is the main task of regenerative medicine, which considers the use of stem cells (SCs) as the most promising direction [4].

Most of the research in this area are carried out in experiments on animals [4–6]. The clinical implementation of these methods remains a problem and requires devel-

opment of reliable methods for SCs delivery, the study of mechanisms of specific action of mesenchymal stem cells (MSCs) on tissues, and other issues, that limit successful implementation of the method in clinical practice [7, 8].

Pathophysiology of TBI. Although the brain damage associated with TBI is usually acute, the further pathophysiological response proceeds in two stages. The first stage is direct physical damage to cellular elements, microvasculature and blood-brain barrier (BBB) [9, 10]. Primary TBI leads to ischemia, a decrease in oxygen and glucose delivery to cells, which changes respiration into anaerobic and leads to accumulation of lactic acid. Depletion of ATP reserves in cells is followed by disruption of membrane permeability, which is accompanied by the accumulation of calcium ions excess in cytoplasm and mitochondria and formation of free radicals, which enhance the damaging effect [11-15]. An intense local inflammatory reaction develops, aggravating the primary injury and increasing its area with the involvement of neurons and glia of neighbor tissues. Inflammatory response consists in activation and migration of leukocytes and microglia to the site of injury and release of cytokines possessing pro-inflammatory (IL-1, IL-6, IL-12, TNF α , IFN α , IFN β , IFN γ) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10, TGF β , IL-10) functions. A cytokine storm, in addition to oxygen radicals, gaseous mediators, proteinases, chemokines and other factors with cytotoxic effects, multiplies the death of nerve and glial cells [13, 16-18]. This complex cascade is known as secondary brain injury in TBI. Astrocytes, which form the basis of the BBB and are a key link in brain defense, surround the damaged area with a kind of glial scar that protects the intact part of the brain after TBI. However, the formed scar restricts the influx of macrophages, immunocompetent cells responsible for removal of inhibitory myelin from the damaged area, which ultimately inhibits the process of functional recovery of damaged brain area [19-22] and restoration of BBB [23].

Effect of MSCs on focal brain lesions. MSCs are multipotent stromal cells that are extracted from virtually any mature tissue and have potential to differentiate into a variety of cell types, including osteogenic, adipogenic, cartilaginous, and neural [24-28].

MSCs are able to migrate to sites of brain damage [7, 29-32]. Ponte A.L. et al. (2007) showed that MSC migration depends on a number of chemical agents and growth factors [33]. Another mechanism involves vascular cell adhesion molecule VCAM-1 [34, 35]. There is more evidence for how MSCs find damaged cells within healthy tissue. Introduction of MSCs into damaged tissue promotes endogenous tissue repair process by releasing active growth factors [36-39]. MSCs also have immunosuppressive properties that can be used to reduce secondary brain damage in severe TBI [40, 41].

The mechanisms of regenerative effect of MSCs in brain lesions are widely studied in experimental animal

models. Until recently, it was believed that SCs administered intracerebrally migrate to TBI focus, where they survive for two months and differentiate into functional neurons, astrocytes, and oligodendrocytes [42]. However, this opinion is criticized because there is no clear evidence that SCs are capable of generating several deterministic subtypes of neurons with axons at the lesion locus, which form new synaptic contacts [43]. By the way, it has been shown in vivo that neuron-like cells derived from MSCs do not have the ability to generate an action potential [44, 45].

Transplantation of SCs activates efficiency of functioning of preserved neural networks, which contributes to restoration of sensory and motor functions and explains their reparative potential [6, 46]. It is all the more difficult to imagine a different opinion, for example, on the activation of neurogenesis in the form that was completed at the embryonic stage of development at a low Hayflick limit (0.1) for nervous tissue [47]. From our point of view, neuroplasticity is not the ability to generate new neurons, but the ability to "reanimate" the functions of neural networks preserved after injury.

It has been established that MSCs, mononuclear cells of umbilical cord blood and bone marrow, are able to improve neurological function in experimental models of cerebral ischemia through a combination of effects such as neuroprotection, angiogenesis, immunomodulation and stimulation of neuronal plasticity, but these effects are not necessarily associated with the presence of cells at the site of injury [48-51]. These mechanisms of action are fully explainable by secretion of neurotrophic factors and immunomodulatory molecules by transplanted MSCs, the effect of which is additionally potentiated by microenvironment of damaged brain (paracrine mechanisms) [52]. It has been shown that MSCs exhibit reparative potential due to release of many neurotrophic factors (nerve growth factor, glial-derived neurotrophic factor, brain-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, etc.) and the mechanism of exosome-mediated microRNA transfer to neurons and astrocytes [53-55]. It is believed that several injections are required to optimize release of required factors from MSCs [56]. These results support the idea that the presence of MSCs promotes restoration of nervous system functions through secretion of soluble growth factors [39, 57, 58].

MATERIALS AND METHODS

15 patients with severe TBI (4-8 Glasgow Coma Scale (GCS) points) were selected in accordance with developed list of indications and contraindications for complex treatment with MSCs of adipose tissue. Patients were aged 19÷69 years (41.8±17.6 years), 13 men, 2 women. 10 (66.6%) of these patients received surgery due to intracranial hematomas and brain contusions, including 7 (46.7%) patients subjected to decompressive hemicraniectomy.

The biological material was prepared as follows. Adipose tissue from the patient's abdominal wall was excised with scissors under intravenous anesthesia, washed in phosphate buffered saline (Sigma-Aldrich, USA, pH=7.4), placed for 30-40 minutes in 0.075% type I collagenase solution (Sigma-Aldrich, USA) or for 30 min in 0.25% EDTA trypsin solution (Sigma-Aldrich, USA). Then an equal volume of DMEM medium (Sigma-Aldrich, USA) was added to neutralize enzyme activity. Resulting cell suspension was centrifuged for 10 min at 1500 rpm. The cell pellet was washed twice in phosphate buffered saline for 10 min at 1500 rpm and then in DMEM medium, plated into plastic culture flasks, which were placed in humidified atmosphere with 5% CO₂ content (Revco Elite II incubator, USA). The medium was removed from the vials in 48 hours, cells were washed with phosphate buffered saline, 1 ml of trypsin solution was added and incubated for three minutes at 37°C. Then the cells were washed from trypsin and resulting precipitate, if necessary, was sown again in culture flasks. Cell mass was trypsinized according to the standard technique and resuspended in saline on the day of implantation of autologous MSCs in a specific TBI patient [59].

The cell material control algorithm included morphological analysis of MSCs; dynamics of culture growth; pluripotency; phenotyping of MSCs (CD90, CD105, CD13, CD44, CD73, CD29, CD34, CD45); percentage of viable MSCs; bacteriological culture to control sterility of MSCs. Preparation of MSCs took from 8 to 14 days from the collection of biological material.

Two (13.3%) patients died after taking biological material before the start of cell therapy, two more (13.3%) - before its end (1-2 MSCs injections were performed). These patients are not included in analytical design. Cell therapy was started on the 16-30th day from the moment of injury in 7 (63.6%) patients, in the period from 2 to 12 months after the injury – in 4 (36.4%).

Perineural implantation of autologous MSCs through the submucosal layer of nasal cavity was performed under general anesthesia using the endoscopic technique developed by the authors of the article. Endoscopic Karl Storz stand (Germany) was used. The area of brain damage and the side of predominant lesion were determined according to CT data. Taking into account somatotopic principle of MSCs distribution in brain, the zone of intranasal implantation was selected: receptor fields of the olfactory nerves in case of predominant lesion of supratentorial parts of brain and receptor fields of trigeminal nerves in case of predominant lesion of subtentorial parts.

MSCs were injected 3-4 times with an interval of 3-7 days, depending on their growth rate, in a single dose from 12.0×10^6 to 35.0×10^6 cells, with a total dose from 52.2×10^6 to 145.5×10^6 cells. One injection of allogeneic MSCs was performed before the start of therapy with autologous MSCs on the day of biomaterial sampling at a

dose of 20.0×10^6 cells to reduce waiting period in the last five (45.5%) observations. In another (9.1%) case, due to biological limitations of conduction, three injections of allogeneic MSCs were administered at a total dose of 60.0×10^6 cells.

Changes in the level of consciousness were assessed by GCS, features of neurological status, dynamics of changes on brain CT throughout the treatment period. Skull defect plastics was performed in all patients in need within 1.5 to 2.5 months after the injury. GCS treatment outcomes were assessed in 10 patients after 6 months (one patient received MSC therapy 12 months after injury).

RESULTS AND DISCUSSION

The use of autologous and allogeneic MSCs of adipose tissue in the complex treatment of patients with severe TBI by means of their perineural delivery to the area of traumatic brain injury turned out to be safe and did not cause complications.

Despite cell therapy with MSCs, one (10.0%) patient died, vegetative state remained in one patient (10.0%) after 6 months. Remaining 8 patients showed Glasgow Outcome Scale Extended, GOSE [60] score from 4 to 7 points, with an average of 5.4 ± 1.1 points after 6 months. The control group was selected by the "copy-pair" method, in the maximum similarity of age, sex, clinical condition of patients and CT picture of brain upon admission to hospital.

At this stage, it can be noted that a relatively early start of cell therapy contributed to restoration of higher level of cognitive functions. Those patients who received MSCs at a dose more than 80.0×10^6 had better neurological outcomes. Here is a brief example of clinical observation.

Patient L., 28 years old, received severe TBI on July 10, 2020. Operated, acute subdural hematoma on the left was removed, decompressive hemicraniectomy on the left was performed. Coma duration was 9 days. Biological material was taken from the patient in this state and 20.0×10^6 allogeneic MSCs were injected. Then, during the course of therapy, another 145.5×10^6 autologous MSCs were injected by three injections at weekly intervals. Plastic surgery of the skull defect was performed in two months after decompression. The patient's aphasic disorders were completely rebuilt, motor disorders recovered. Minimal limitation of movement in the right hand is maintained. Outcome assessment according to GOSE - 7 points (Fig. 1).

The use of MSCs in the late period (one year after suffering severe TBI) provided a patient with severe aphasic disorders with complete recovery of speech function. Here is a brief example of clinical observation.

Patient G., 39 years old, received severe TBI on June 29, 2018. Acute subdural hematoma removed, depressed fracture of the left temporal bone eliminated, then decom-

pressive hemicraniectomy performed. Dynamic recovery of cognitive and motor functions was observed in post-operative period after 5 days of coma. However, speech did not recover one year after the injury, despite active training with a speech therapist. Biomaterial was taken on May 27, 2019 and three implantations of autologous MSCs of adipose tissue were performed in a total dose of 87.4×10^6 cells from June 09, 2019. Speech recovery

occurred up to one month after cell therapy, although some reversal of speech dysfunction was noted after each administration of MSCs. Now speech has recovered, the GOSE score is 7 points (Fig. 2).

Thus, the conduct of complex therapy, including MSCs implantation in acute and subacute periods of severe TBI, contributed to survival of patients and recovery of neurological, including cognitive, functions in our study.

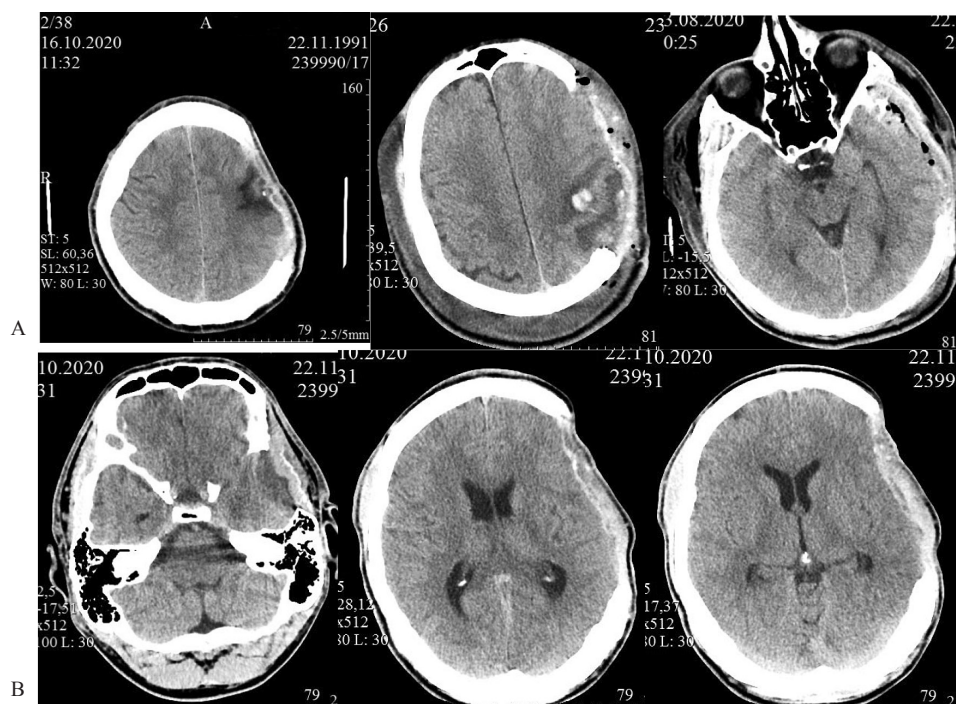


Fig. 1. Patient L., 28 years old. Severe TBI. A - Acute period, CT after decompression craniotomy, before cell therapy;
B - CT after the end of cell therapy, before the plastic of the skull bone defect

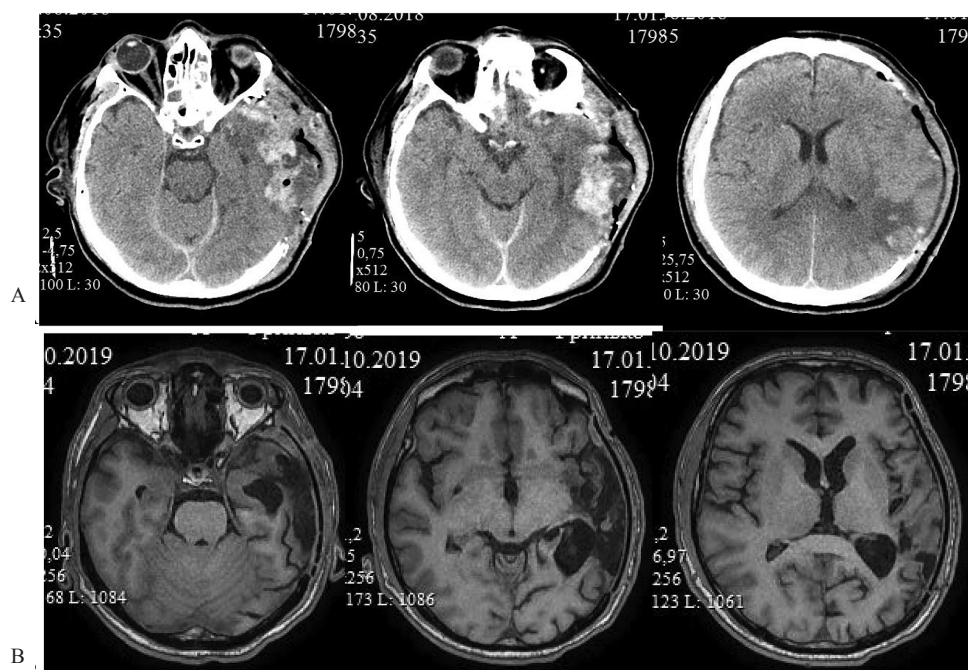


Fig. 2. Patient G., 39 years old. Severe TBI. A - Acute period, CT after decompression craniotomy, before cell therapy;
C - CT after the end of cell therapy, after plastic surgery of the skull bone defect

Intracerebral stereotaxic injection of SCs into the focus of cerebral infarction demonstrated significant positive effect on restoration of neurological functions upon initiation of cell therapy at the early stage of disease (first week) [61] and significant variability of recovery process upon initiation of cell therapy at the later stages of disease [62-66]. Some doubts are raised by the press reports about the positive effects of treatment within 3-8 years after the disease onset, when the processes of apoptosis and functional restructuring of the nervous system have already been completed. Despite the fact that intracerebral transplantation allows a large number of cells entering the lesion focus, this method is accompanied by uneven distribution of SCs in brain [67].

Intrathecal administration of SCs is accompanied by short-term fever and meningeal symptoms, but, in general, is an effective method of treatment [68, 69]. The phenomena of meningism are caused by destruction of SCs in osmotic conditions of cerebrospinal fluid. Cranial movement of SCs against CSF flow during lumbar punctures is questionable. A certain effectiveness of this method is probably due to the influence of growth factors from the contents of exosomes released into cerebrospinal fluid after destruction of SCs.

Intra-arterial administration of SCs in focal brain lesions sometimes has a positive effect; however, less than 2% of the total amount of injected SCs accumulate in brain [70-73]. It is important that intra-arterial injection of SCs can lead to embolism, significant decrease in cerebral blood flow, and is accompanied by increase of mortality [67, 74].

Intravenous administration of SCs is the simplest method for delivering cellular material to brain lesions. It has been demonstrated [75] that SCs labeled with iron oxide nanoparticles, according to MRI data, in rare cases migrate to the focus of cerebral infarction after intravenous administration of SCs. A number of authors point at persistent or transient positive effects of intravenous cell therapy [76, 77], while other authors, on the contrary, point at their absence [78]. Rosado-de-Castro P.H. et al. [71] showed that intravenous injection of SCs leads to small accumulation in the affected hemisphere compared to intra-arterial route. But the final results of therapy in both groups [71] were very similar.

Kamiya N. et al. [79] showed that intra-arterial administration of SCs provides their higher content in brain and better results in comparison with intravenous administration. However, Vasconcelos-dos-Santos A. et al. [80] found that intravenous and intra-arterial infusions of SCs in the model of permanent ischemia are accompanied by equivalent recovery of brain functions with a low level of SCs deposition in brain (less than 2% of the total number of injected SCs). Zhang L. et al. [81] noted that intra-arterial, intravenous, intracerebral, intracisternal, and lumbar intrathecal delivery of SCs in an ischemic model led to similar structural improvements. Meta-anal-

ysis of preclinical studies of stroke by Lees J.S. et al. has not revealed any effect of SCs delivery pathway on the effectiveness of cell therapy [82].

It is known that SCs migrate along the afferent perineural spaces and have positive taxis for damaged tissue [83]. The authors of the article proposed a hypothesis about the use of these properties for SCs migration to the brain [84, 85]. The areas of olfactory and trigeminal nerves terminals were proposed as zones for implantation. By the way, there is a pool of endogenous olfactory SCs in nasal cavity [86]. Experiments on laboratory rats have shown the presence of somatotopic distribution of SCs in brain [87]. Injected of SCs into olfactory nerve receptor field led to distribution of fluorescent cells in supratentorial regions of brain, while SCs injection into the region of trigeminal nerve receptor endings was followed by SCs migration to the affected areas of posterior cranial fossa [87].

The technique of MSCs endoscopic intranasal implantation has been experimentally developed for clinical use [88]. Taking into account the properties of MSCs, it was assumed that the efficiency of delivery of implanted cells to the area of brain damage (cerebral infarctions, intracranial hemorrhages, TBI, and other brain diseases) will increase due to their directed migration along the afferent fibers of cranial nerves, which contributes to increase in the treatment effectiveness. It is necessary to implant MSCs in the region of receptor endings of olfactory nerves (upper and middle floors of the nasal cavity) when the destruction site is located in supratentorial parts of the brain. And it is advisable to implant MSCs in the region of receptor endings of trigeminal nerves (lower and middle floors of nasal cavity) or in the Meckel space when the destruction site is located in posterior cranial fossa. Such method of implantation will significantly reduce the amount of implanted material and surgical trauma to patients. The proposed technique for implantation of MSCs is distinguished by its simplicity of performing the manipulation for a trained neurosurgeon.

Schepici G. et al. [69] presented analysis of clinical studies on the use of SCs in TBI, registered at <https://clinicaltrials.gov/>. The site has a list of clinical trials approved by local ethics committees – a total of 18 studies. No definitive conclusions have been drawn as the recruitment of patients continues [69].

C.S. Cox Jr et al. [89] implanted MSCs in 10 children with severe TBI with GCS score of 5 to 8 and followed them up for 6 months. 7 children showed positive result per GCS. The other three children did not have a significant improvement in their quality of life. None of the children died or suffered from side effects due to the use of MSCs in combination therapy. The same authors have used MSCs in the treatment of cerebral stroke in adults with positive results [89].

C.S. Cox Jr. et al. [90] assessed safety and efficacy of autologous bone marrow mononuclear cells (ABMMC)

transplantation at high doses. 25 patients (aged 18 to 55 years) with severe TBI (GCS 5-8 points) were enrolled. Final doses of ABMMC – 6×10^6 cells/ml/kg, 9×10^6 cells/ml/kg, or 12×10^6 cells/ml/kg in 0.9% saline containing 5% human serum albumin were injected intravenously. None of the patients experienced severe side effects after ABMMC transplantation. The pools of IL-1 β , IFN- γ and TNF- α showed a significant decrease in concentrations after ABMMC transplantation in patients, which corresponds to suppression of inflammatory response to trauma. In summary, ABMMC transplantation in patients with severe TBI is effective in maintaining brain function by attenuating inflammatory response [90].

The study by S. Wang et al. [91] was aimed at evaluating efficacy of cord blood MSCs transplantation in patients with TBI. Patients from the main group were injected four times with 2 ml of suspension containing 1×10^7 MSCs through lumbar puncture for 5-7 days. These patients showed a significant improvement in motor function, sensitivity and coordination of movements, as well as improved mobility, communication and the ability to be independent after 6 months of MSCs addition to the complex therapy. In summary, transplantation of cord blood MSCs by lumbar puncture is associated with improved brain function after TBI [91].

Retrospective cohort study by G.P. Liao et al. [92] included 29 children (5-14 years old) on the first day of severe TBI (GCS 5-8 points). Patients from the main group were injected with ABMMC intravenously at the dose of 6×10^6 cells/kg of body weight within 48 hours after injury. The volume of intensive care was significantly reduced to maintain normal intracranial pressure in 24 hours after ABMMC transplantation, and movement disorders began to recover in one week. These results are presumably due to therapeutic effect of cell therapy [92] by reducing the effects of inflammation in the early period of severe TBI [92].

C. Tian et al. [93] showed that the use of ABMMC has a window of effectiveness after TBI. ABMMC were implanted by lumbar puncture in 97 patients, 24 of whom were in vegetative state. Signs of recovery of brain functions were noted in 38 out of 97 patients in 14 days after transplantation. Specifically, 11 out of 24 patients in vegetative state showed improvement of consciousness level. Motor activity improved in 27 out of 73 patients with motor dysfunction. Younger patients showed more significant recovery than the elderly, and the effectiveness of cell therapy was the higher the earlier the implantation of cells was started.

Z.X. Zhang et al. [94] showed that the use of MSCs in patients with TBI is a safe and effective procedure that potentially accelerates recovery of brain function. The procedure consisted of injecting 10^7 - 10^9 MSCs directly into the damaged area of the brain during cranial surgery, followed by intravenous injection of 10^8 - 10^{10} cells. Cell therapy was administered to eight patients. There were

no side effects and only one patient had two episodes of epilepsy in the first two months. The Barthel index in all patients have been constantly increasing during 6 months of treatment. The results of the authors' studies indicate that cell therapy in the treatment of severe TBI using adipose tissue MSCs is safe and does not cause complications. Perineural implantation of MSCs is capable of delivering biological material to critical areas of the brain, as evidenced by positive transplant result. The effect of cell therapy was obtained both in acute and long-term periods of TBI. The small size of the main group does not allow reflecting reliability of the obtained results, but the data indicate the prospects and effectiveness of cell therapy in the treatment of severe TBI.

Despite the abundant evidence that MSCs are promising in the treatment of TBI, a number of obstacles remain for the widespread adoption of this approach. One of the main problems in the use of MSCs is the limited understanding of how these cells "target" damaged tissues [7] and what specific neurotrophic factors contained in MSCs are responsible for the therapeutic mechanisms of action of MSCs [95]. It should be noted that there is objective evidence that MSCs exhibit immunosuppressive effects in inflammatory conditions [96, 97]. Given that the secondary mechanisms of brain injury in TBI involve inflammatory response [98], the use of MSCs in treatment may cause unexpected effects [99].

H.J. Kim et al. [100] reported that although transplanted SCs in animal models survived for a long time, a small number of SCs differentiated into neurons and astrocytes. But the authors explain restoration of brain functions not by this effect, but by an increase in the levels of NGF, BDNF, and neurotrophin-3 in brain, since the release of these neurotrophic factors from SCs was accompanied by inhibition of apoptosis. This confirms the opinion of the authors of the article that SCs affect the focus of brain damage through trophic factors secreted with exosomes, but not through restoration of brain cellular pool.

The use of MSCs to treat TBI has generated tremendous interest over the past decade. This is because the technology for MSCs culturing is available. The supposed role of MSCs in TBI treatment is determined by the effect of trophic factors secreted by MSCs on "survived" neural networks of patient's brain. Neurotrophic factors of MSCs reduce inflammation in brain tissue of the recipient, which altogether contribute to increase in efficiency of preserved neural networks functioning in the brain of patients after TBI [101, 102].

The paracrine mechanisms of MSCs action in restoration of damaged tissues in TBI require further research [103]. Recently, there have been concerns about the possible role of MSCs in development of cancer and autoimmune diseases. This potential side effect also requires further research [11, 104].

CONCLUSIONS

The effectiveness of intranasal perineural implantation of MSCs in the complex therapy of patients with TBI has been demonstrated. The mechanisms of the beneficial effects of perineural implantation of MSCs in patients with TBI require further research.

Contributors

AZ, SK, VG, VN did the literature search and drafted the paper. SK, YT, ZK cultured stem cells.

YS, VA, AT, MN, LN operated on patients. VA and YS put forward the hypothesis and revised the manuscript.

All the authors have read and agreed to the final manuscript.

Declaration of interests

We declare no competing interests.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Acknowledgments

We apologize to all whose work we could not cite because of space limitations.

Ethical Standards and Informed Consent

All procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Informed consent was obtained from all patients for being included in the study. Additional informed consent was obtained from all individuals for whom identifying information is included in this article.

REFERENCES

1. Thornhill S., Teasdale G.M., Murray G.D., McEwen J, Roy CW, Penny KI. Disability in young people and adults one year after head injury: prospective cohort study. *BMJ*. 2000 Jun 17; 320(7250): 1631-5. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.320.7250.1631>
2. Hyder A.A., Wunderlich C.A., Puvanachandra P., Gururaj G., Kobusingye O.C. The impact of traumatic brain injuries: a global perspective. *NeuroRehabilitation*. 2007; 22(5): 341-53. DOI: <https://doi.org/10.3233/NRE-2007-22502>
3. Taylor C.A., Bell J.M., Breiding M.J., Xu L. Traumatic Brain Injury-Related Emergency Department Visits, Hospitalizations, and Deaths - United States, 2007 and 2013. *MMWR Surveill Summ*. 2017 Mar 17; 66(9): 1-16. DOI: <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6609a1>
4. Heile A.M., Wallrapp C., Klinge P.M., Samii A., Kassem M., Silverberg G., Brinker T. Cerebral transplantation of encapsulated mesenchymal stem cells improves cellular pathology after experimental traumatic brain injury. *Neurosci. Lett*. 2009 Oct 9; 463: 176-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.07.071>
5. Chuang T.J., Lin K.C., Chio C.C., Wang C.C., Chang C.P., Kuo J.R. Effects of secretome obtained from normoxia-preconditioned human mesenchymal stem cells in traumatic brain injury rats. *J. Trauma Acute Care Surg*. 2012 Nov; 73: 1161-7. DOI: <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e318265d128>
6. Anbari F., Khalili M.A., Bahrami A.R., Khoradmehr A., Sadeghian F., Fesahat F., Nabi A. Intravenous transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells promotes neural regeneration after traumatic brain injury. *Neural Regen. Res*. 2014 May 1; 9: 919-23. DOI: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.133133>
7. Karp J.M., Teo G.S.L. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell*. 2009 Mar 6; 4:206-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.02.001>
8. Menge T., Zhao Y., Zhao J., Wataha K., Gerber M., Zhang J., Letourneau P., Redell J., Shen L., Wang J., Peng Z., Xue H., Kozar R., Cox C.S., Khakoo A.Y., Holcomb J.B., Dash P.K., Pati S. Mesenchymal stem cells regulate blood-brain barrier integrity through TIMP3 release after traumatic brain injury. *Sci. Transl. Med*. 2012 Nov 21; 4(161): 161ra150. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004660>
9. Zhang Y., Chopp M., Meng Y., Katakowski M., Xin H., Mahmood A., Xiong Y. Effect of exosomes derived from multipotent mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain injury. *J. Neurosurg*. 2015 Apr; 122(4): 856-67. DOI: <https://doi.org/10.3171/2014.11.JNS14770>
10. Ma Z.-J., Yang J.-J., Lu Y.-B., Zhao-Yang Liu Z.-Y., Xue-Xi Wang X.-X. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: Toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *World J. Stem Cells*. 2020 Aug 26; 12(8): 814-840. DOI: <https://doi.org/10.4252/wjsc.v12i8.814>
11. Ng S.Y., Lee A.Y.W. Traumatic Brain Injuries: Pathophysiology and Potential Therapeutic Targets. *Front. Cell Neurosci*. 2019 Nov 27; 13: 528. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00528>
12. Lowry L.E., Herzig M.C., Christy B.A., Schäfer R., Pati S., Cap A.P., Bynum J.A. Neglected No More: Emerging Cellular Therapies in Traumatic Injury. *Stem Cell Rev. Rep*. 2021 Jan 8; 1-21. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10086-7>
13. Algattas H., Huang J.H. Traumatic brain injury pathophysiology and treatments: early, intermediate, and late phases post-injury. *Int. J. Mol. Sci*. 2013 Dec 30; 15: 309-41. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms15010309>
14. Prins M., Greco T., Alexander D., Giza C.C. The pathophysiology of traumatic brain injury at a glance. *Dis. Model Mech*. 2013 Nov; 6(6): 1307-15. DOI: <https://doi.org/10.1242/dmm.011585>
15. Jalloh I., Carpenter K.L.H., Helmy A., Carpenter T.A., Menon D.K., Hutchinson P.J. Glucose metabolism following human traumatic brain injury: methods of assessment and pathophysiological findings. *Metab. Brain Dis*. 2015 Jun; 30: 615-32. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9628-y>
16. Johnson V.E., Stewart W., Smith D.H. Axonal pathology in traumatic brain injury. *Exp. Neurol*. 2013

- Aug; 246: 35-43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.01.013>
17. Werner C. Traumatic Brain Injury. 2017. DOI: <http://www.mayfieldclinic.com/PE-TBI.htm>
18. Dardiotis E., Karanikas V., Paterakis K., Fountas K., Hadjigeorgiou G.M. Traumatic brain injury and inflammation: emerging role of innate and adaptive immunity. In: Agrawal A., Editor. Brain Injury – Pathogenesis, Monitoring, Recovery and Management. Rijeka: In-Tech. 2012: 23-38. DOI: <https://doi.org/10.5772/27840>
19. Silver J., Miller J.H. Regeneration beyond the glial scar. Nat. Rev. Neurosci. 2004 Feb; 5(2): 146-56. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn1326>
20. Myer D., Gurkoff G., Lee S., Hovda D., Sofroniew M. Essential protective roles of reactive astrocytes in traumatic brain injury. Brain. 2006 Oct; 129: 2761-72. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awl165>
21. Maas A.I., Stocchetti N., Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. Lancet Neurol. 2008 Aug; 7(8): 728-41. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(08\)70164-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70164-9)
22. Rolls A., Shechter R., Schwartz M. The bright side of the glial scar in CNS repair. Nat. Rev. Neurosci. 2009 Mar; 10: 235-41. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn2591>
23. Lucas S., Rothwell N.J., Gibson R.M. The role of inflammation in CNS injury and disease. Br. J. Pharmacol. 2006 Jan; 147: S232-40. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706400>
24. Woodbury D., Schwarz E.J., Prockop D.J., Black I.B. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J. Neurosci. Res. 2000 Aug; 61: 364-70. DOI: [https://doi.org/10.1002/1097-4547\(20000815\)61:4<364::AID-JNR2>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1097-4547(20000815)61:4<364::AID-JNR2>3.0.CO;2-C)
25. Toma C., Pittenger M.F., Cahill K.S., Byrne B.J., Kessler P.D. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. Circulation. 2002 Jan; 105(1): 93-8. doi:10.1161/hc0102.101442
26. Horwitz E., Le Blanc K., Dominici M., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F.C., Deans R.J., Krause D.S., Keating A.; International Society for Cellular Therapy. Clarification of the nomenclature for MSC: the International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2005 7(5): 393-5. DOI: <https://doi.org/10.1080/14653240500319234>
27. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D.J., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006 8(4): 315-7. DOI: <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
28. da Silva Meirelles L., Chagastelles P.C., Nardi N.B. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. J. Cell Sci. 2006 Jun 1; 119(Pt 11): 2204-13. DOI: <https://doi.org/10.1242/jcs.02932>
29. Mahmood A., Lu D., Qu C., Goussev A., Chopp M. Long-term recovery after bone marrow stromal cell treatment of traumatic brain injury in rats. J. Neurosurg. 2006 Feb; 104(2): 272-7. DOI: <https://doi.org/10.3171/jns.2006.104.2.272>
30. Chamberlain G., Fox J., Ashton B., Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. Stem Cells. 2007 Nov; 25(11): 2739-49. DOI: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0197>
31. Meirelles Lda. S., Fontes A.M., Covas D.T., Caplan A.I. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. Cytokine Growth Factor Rev. 2009 Oct-Dec; 20(5-6): 419-27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2009.10.002>
32. Walker P.A., Shah S.K., Harting M.T., Cox C.S. Progenitor cell therapies for traumatic brain injury: barriers and opportunities in translation. Dis. Models Mech. 2009 Jan-Feb; 2(1-2): 23-38. DOI: <https://doi.org/10.1242/dmm.001198>
33. Ponte A.L., Marais E., Gallay N., Langonne A., Delorme B., Herault O., Charbord P., Domenech J. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. Stem Cells. 2007 Jul; 25(7): 1737-45. DOI: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0054>
34. Rüster B., Göttig S., Ludwig R.J., Bistran R., Müller S., Seifried E., Gille J., Henschler R. Mesenchymal stem cells display coordinated rolling and adhesion behavior on endothelial cells. Blood. 2006 Dec 1; 108(12): 3938-44. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-025098>
35. Segers V.F., Van Riet I., Andries L.J., Lemmens K., Demolder M.J., De Becker A.J., Kockx M.M., De Keulenaer G.W. Mesenchymal stem cell adhesion to cardiac microvascular endothelium: activators and mechanisms. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2006 Apr; 290(4): H1370-7. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00523.2005>
36. Rojas M., Xu J., Woods C.R., Mora A.L., Spears W., Roman J., Brigham K.L. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2005 Aug; 33(2): 145-52. DOI: <https://doi.org/10.1165/rcmb.2004-0330OC>
37. Munoz J.R., Stoutenger B.R., Robinson A.P., Spees J.L., Prockop D.J. Human stem/progenitor cells from bone marrow promote neurogenesis of endogenous neural stem cells in the hippocampus of mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005 Dec 13; 102(50): 18171-6. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0508945102>
38. Hoogduijn M.J., Popp F., Verbeek R., Masoodi M., Nicolaou A., Baan C., Dahlke M.-H. The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their use for immunotherapy. Int. Immunopharmacol. 2010 Dec; 10(12): 1496-500. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.06.019>
39. Galindo L.T., Filippo T.R., Semedo P., Ariza C.B., Moreira C.M., Camara N.O.S., Porcionatto M.A. Mesenchymal stem cell therapy modulates the inflammatory response in experimental traumatic brain injury.

- ry. *Neurol. Res. Int.* 2011; 2011: 564089. DOI: <https://doi.org/10.1155/2011/564089>
40. Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M., Ferrer K., McIntosh K., Patil S., Hardy W., Devine S., Ucker D., Deans R., Moseley A., Hoffman R. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp. Hematol.* 2002 Jan; 30(1): 42-8. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-472X\(01\)00769-X](https://doi.org/10.1016/S0301-472X(01)00769-X)
41. Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M., Milanese M., Longoni P.D., Matteucci P., Grisanti S., Gianni A.M. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood.* 2002 May 15; 99(10): 3838-43. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.V99.10.3838>
42. Daadi M.M., Li Z., Arac A., Grueter B.G., Sofilos M., Malenka R.C., Wu J.C., Steinberg G.K. Molecular and Magnetic Resonance Imaging of Human Embryonic Stem Cell-Derived Neural Stem Cell Grafts in Ischemic Rat Brain. *Molecular Therapy.* 2009 Jul; 17(7): 1282-91. DOI: <https://doi.org/10.1038/mt.2009.104>
43. López-Bendito G, Arlotta P. Cell replacement therapies for nervous system regeneration. *Dev. neurobiology.* 2012 Feb; 72(2): 145-52. DOI: <https://doi.org/10.1002/dneu.20897>
44. Roybon L., Lamas N.J., Garcia A.D., Yang E.J., Sattler R., Lewis V.J., Kim Y.A., Kachel C.A., Rothstein J.D., Przedborski S., Wichterle H., Henderson C.E. Human stem cell-derived spinal cord astrocytes with defined mature or reactive phenotypes. *Cell Rep.* 2013 Sep 12; 4(5): 1035-48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.06.021>
45. Barnabe G.F., Schwindt T.T., Calcagnotto M.E., Motta F.L., Martinez G. Jr, de Oliveira A.C., Keim L.M., D'Almeida V., Mendez-Otero R., Mello L.E. Chemically-induced RAT mesenchymal stem cells adopt molecular properties of neuronal-like cells but do not have basic neuronal functional properties. *PLoS One.* 2009 Apr 16; 4(4): e5222. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005222>
46. Zanier E.R., Pischiutta F., Riganti L., Marchesi F., Turola E., Fumagalli S., Perego C., Parotto E., Vinci P., Veglianesi P., D'Amico G., Verderio C., De Simoni M.-G. Bone marrow mesenchymal stromal cells drive protective M2 microglia polarization after brain trauma. *Neurotherapeutics.* 2014 Jul; 11(3): 679-95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0277-y>
47. Zane B. The Hayflick Limit. *The Embryo Project Encyclopedia.* 2019. DOI: <https://embryo.asu.edu>
48. Giraldo-Guimarães A., de Freitas H.T., Coelho B. de P., Macedo-Ramos H., Mendez-Otero R., Cavalcante L.A., Baetas-da-Cruz W. Bone marrow mononuclear cells and mannose receptor expression in focal cortical ischemia. *Brain Res.* 2012 May 3; 1452: 173-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.03.002>
49. Brenneman M., Sharma S., Harting M., Strong R., Cox C.S. Jr, Aronowski J., Grotta J.C., Savitz S.I. Autologous bone marrow mononuclear cells enhance recovery after acute ischemic stroke in young and middle-aged rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2010 Jan; 30(1): 140-9. DOI: <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.198>
50. Bakondi B., Shimada I.S., Peterson B.M., Spees J.L. SDF-1 α secreted by human CD133-derived multipotent stromal cells promotes neural progenitor cell survival through CXCR7. *Stem Cells Dev.* 2011 Jun; 20(6): 1021-9. DOI: <https://doi.org/10.1089/scd.2010.0198>
51. Bao X., Wei J., Feng M., Lu S., Li G., Dou W., Ma W., Ma S., An Y., Qin C., Zhao R.C., Wang R. Transplantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes behavioral recovery and endogenous neurogenesis after cerebral ischemia in rats. *Brain Res.* 2011 Jan 7; 1367: 103-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.063>
52. Ranganath S.H., Levy O., Inamdar M.S., Karp J.M. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. *Cell Stem Cell.* 2012 Mar 2; 10(3): 244-58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.02.005>
53. Andres R.H., Horie N., Slikker W., Keren-Gill H., Zhan K., Sun G., Manley N.C., Pereira M.P., Sheikh L.A., McMillan E.L., Schaar B.T., Svendsen C.N., Bliss T.M., Steinberg G.K. Human neural stem cells enhance structural plasticity and axonal transport in the ischaemic brain. *Brain.* 2011 Jun; 134(Pt6): 1777-89. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awr094>
54. Hawryluk G.W., Mothe A.J., Chamankhah M., Wang J., Tator C., Fehlings M.G. In vitro characterization of trophic factor expression in neural precursor cells. *Stem Cells Dev.* 2012 Feb 10; 21(3): 432-47. DOI: <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0242>
55. Xin H., Li Y., Buller B., Katakowski M., Zhang Y., Wang X., Shang X., Zhang Z.G., Chopp M. Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth. *Stem Cells.* 2012 Jul; 30(7): 1556-64. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.1129>
56. van Velthoven C.T., Kavelaars A., van Bel F., Heijnen C.J. Nasal administration of stem cells: a promising novel route to treat neonatal ischemic brain damage. *Pediatr. Res.* 2010 Nov; 68(5): 419-22. DOI: <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181f1c289>
57. Gardner R.C., Yaffe K. Traumatic brain injury may increase risk of young onset dementia. *Ann. Neurol.* 2014 Mar; 75(3): 339-41. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.24121>
58. Grigorian A., Gilerovich E., Pavlichenko N., Kruglyakov P., Sokolova I., Polyntsev D. Effect of transplantation of mesenchymal stem cells on neuronal survival and formation of a glial scar in the brain of rats with severe traumatic brain injury. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2011 Feb; 150(4): 551-5. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-011-1187-1>
59. Connick P., Patani R., Chandran S. Stem cells as a resource for regenerative neurology. *Pract. Neurol.* 2011 Feb; 11(1): 29-36. DOI: <https://doi.org/10.1136/jnnp.2010.235184>
60. Wilson J.T., Pettigrew L.E., Teasdale G.M. Structured interviews for the Glasgow Outcome Scale and the

- extended Glasgow Outcome Scale: guidelines for their use. *J. Neurotrauma*. 1998 Aug; 15(8): 573-85. DOI: <https://doi.org/10.1089/neu.1998.15.573>
61. Li Z.M., Zhang Z.T., Guo C.J., Geng F.Y., Qiang F., Wang L.X. Autologous bone marrow mononuclear cell implantation for intracerebral hemorrhage – a prospective clinical observation. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2013 Jan; 115(1): 72-6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.04.030>
62. Meltzer C.C., Kondziolka D., Villemagne V.L., Wechsler L., Goldstein S., Thulborn K.R., Gebel J., Elder E.M., DeCesare S., Jacobs A. Serial [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography after human neuronal implantation for stroke. *Neurosurgery*. 2001 Sep; 49(3): 586-91; discussion 591-2. DOI: <https://doi.org/10.1097/00006123-200109000-00011>
63. Nelson P.T., Kondziolka D., Wechsler L., Goldstein S., Gebel J., DeCesare S., Elder E.M., Zhang P.J., Jacobs A., McGrogan M., Lee V.M.-Y., Trojanowski J.Q. Clonal human (hNT) neuron grafts for stroke therapy: neuropathology in a patient 27 months after implantation. *Am. J. Pathol.* 2002 Apr; 160(4): 1201-6. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62546-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62546-1)
64. Kondziolka D., Wechsler L., Goldstein S., Meltzer C., Thulborn K.R., Gebel J., Jannetta P., DeCesare S., Elder E.M., McGrogan M., Reitman M.A., Bynum L. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology*. 2000 Aug 22; 55(4): 565-9. DOI: <https://doi.org/10.1212/wnl.55.4.565>
65. Kondziolka D., Steinberg G.K., Wechsler L., Meltzer C.C., Elder E., Gebel J., Decesare S., Jovin T., Zafonte R., Lebowitz J., Flickinger J.C., Tong D., Marks M.P., Jamieson C., Luu D., Bell-Stephens T., Teraoka J. Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J. Neurosurg.* 2005 Jul; 103(1): 38-45. DOI: <https://doi.org/10.3171/jns.2005.103.1.0038>
66. Suárez-Monteagudo C., Hernández-Ramírez P., Alvarez-González L., García-Maeso I., de la Cuétara-Bernal K., Castillo-Díaz L., Bringas-Vega M.L., Martínez-Aching G., Morales-Chacón L.M., Báez-Martín M.M., Sánchez-Catasús C., Carballo-Barreda M., Rodríguez-Rojas R., Gómez-Fernández L., Alberti-Amador E., Macías-Abraham C., Balea E.D., Rosales L.C., Del Valle Pérez L., Ferrer B.B.S., González R.M., Bergado J.A. Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients. An open study. *Restor. Neurol. Neurosci.* 2009; 27(3): 151-61. DOI: <https://doi.org/10.3233/RNN-2009-0483>
67. Li L., Jiang Q., Qu C.S., Ding G.L., Li Q.J., Wang S.Y., Lee J.H., Lu M., Mahmood A., Chopp M. Transplantation of marrow stromal cells restores cerebral blood flow and reduces cerebral atrophy in rats with traumatic brain injury: in vivo MRI study. *J. Neurotrauma*. 2011 Apr; 28(4): 535-45. DOI: <https://doi.org/10.1089/neu.2010.1619>
68. Rabinovich S.S., Seledtsov V.I., Banul N.V., Poveshchenko O.V., Senyukov V.V., Astrakov S.V., Samarin D.M., Taraban V.Y. Cell therapy of brain stroke. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005 Jan; 139(1): 126-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10517-005-0229-y>
69. Schepici G., Silvestro S., Bramanti P., Mazzon E. Traumatic Brain Injury and Stem Cells: An Overview of Clinical Trials, the Current Treatments and Future Therapeutic Approaches. *Medicina (Kaunas)*. 2020 Mar 19; 56(3): 137. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina56030137>
70. Barbosa da Fonseca L.M., Gutflen B., Rosado de Castro P.H., Battistella V., Goldenberg R.C., Kasai-Brunswick T., Chagas C.L., Wajnberg E., Maiolino A., Salles Xavier S., Andre C., Mendez-Otero R., de Freitas G.R. Migration and homing of bone-marrow mononuclear cells in chronic ischemic stroke after intra-arterial injection. *Exp. Neurol.* 2010 Jan; 221(1): 122-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.10.010>
80. Rosado-de-Castro P.H., Pimentel-Coelho P.M., Fonseca L.M., Freitas G.R., Mendez-Otero R. The rise of cell therapy trials for stroke: review of published and registered studies. *Stem Cells Dev.* 2013 Aug 1; 22(15): 2095-111. DOI: <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0089>
81. Friedrich M.A., Martins M.P., Araújo M.D., Klamt C., Vedolin L., Garicochea B., Raupp E.F., Sartori El Ammar J., Machado D.C., Costa J.C., Nogueira R.G., Rosado-de-Castro P.H., Mendez-Otero R., Freitas G.R. Intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in patients with moderate to severe middle cerebral artery acute ischemic stroke. *Cell Transplant.* 2012; 21 Suppl. 1: S13-21. DOI: <https://doi.org/10.3727/096368912x612512>
82. Jiang Y., Zhang M.J., Hu B.Y. Specification of functional neurons and glia from human pluripotent stem cells. *Protein Cell.* 2012 Nov; 3(11): 818-25. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13238-012-2086-6>
83. Walczak P., Zhang J., Gilad A.A., Kedziorek D.A., Ruiz-Cabello J., Young R.G., Pittenger M.F., van Zijl P.C., Huang J., Bulte J.W. Dual-modality monitoring of targeted intraarterial delivery of mesenchymal stem cells after transient ischemia. *Stroke*. 2008 May; 39(5): 1569-74. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.502047>
84. England T.J., Abaei M., Auer D.P., Lowe J., Jones D.R., Sare G., Walker M., Bath P.M. Granulocyte-colony stimulating factor for mobilizing bone marrow stem cells in subacute stroke: the stem cell trial of recovery enhancement after stroke 2 randomized controlled trial. *Stroke*. 2012 Feb; 43(2): 405-11. DOI: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.636449>
85. Bang O.Y., Lee J.S., Lee P.H., Lee G. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann. Neurol.* 2005 Jun; 57(6): 874-82. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.20501>
86. Honmou O., Houkin K., Matsunaga T., Niitsu Y., Ishiai S., Onodera R., Waxman S.G., Kocsis J.D. Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke. *Brain*. 2011 Jun; 134(Pt 6): 1790-807. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awr063>
87. Bhasin A., Srivastava M.V., Kumaran S.S., Mohanty

- S., Bhatia R., Bose S., Gaikwad S., Garg A., Airan B. Autologous mesenchymal stem cells in chronic stroke. *Cerebrovasc. Dis. Extra.* 2011 Jan-Dec; 1(1): 93-104. DOI: <https://doi.org/10.1159/000333381>
88. Kamiya N., Ueda M., Igarashi H., Nishiyama Y., Suda S., Inaba T., Katayama Y. Intra-arterial transplantation of bone marrow mononuclear cells immediately after reperfusion decreases brain injury after focal ischemia in rats. *Life Sci.* 2008 Sep 12; 83(11-12): 433-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2008.07.018>
 89. Vasconcelos-dos-Santos A., Rosado-de-Castro P.H., Lopes de Souza S.A., da Costa Silva J., Ramos A.B., Rodriguez de Freitas G., Barbosa da Fonseca L.M., Gutfilen B., Mendez-Otero R. Intravenous and intra-arterial administration of bone marrow mononuclear cells after focal cerebral ischemia: Is there a difference in biodistribution and efficacy? *Stem Cell Res.* 2012 Jul; 9(1): 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2012.02.002>
 90. Zhang L., Li Y., Romanko M., Kramer B.C., Gosiewska A., Chopp M., Hong K. Different routes of administration of human umbilical tissue-derived cells improve functional recovery in the rat after focal cerebral ischemia. *Brain Res.* 2012 Dec 13; 1489: 104-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.10.017>
 91. Lees J.S., Sena E.S., Egan K.J., Antonic A., Koblar S.A., Howells D.W., Macleod M.R. Stem cell-based therapy for experimental stroke: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Stroke.* 2012 Oct; 7(7): 582-8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00797.x>
 92. Kenmuir C.L., Wechsler L.R. Update on cell therapy for stroke. *Stroke Vasc. Neurol.* 2017 May 22; 2(2): 59-64. DOI: <https://doi.org/10.1136/svn-2017-000070>. eCollection 2017 Jun
 93. Shanko Y., Navitskaya V., Zamaro A., Zafranskaya M., Krivenko S., Koulchitsky S., Takalchik-Stukach Y., Smeyanovich A., Nizheharodova D., Pashkevich S., Dosina M., Denisov A., Kulchitsky V. Somatotopic principle of perineural implantation of stem cells in patients with brain injuries. *J. Neurol. Stroke.* 2018 Oct; 8(5): 259-61. DOI: <https://doi.org/10.15406/jnsk.2018.08.00321>
 94. Bogodvid T., Pashkevich S., Dosina M., Zamaro A., Takalchik Y., Yafarova G., Andrianov V., Denisov A., Loiko D., Gainutdinov K., Kulchitsky V. Effect of intranasal administration of mesenchymal stem cells on the approximate motor activity of rats after simulation of ischemic stroke. *Eur. J. Clin. Investig.* 2019; 49 (Suppl 1, P146-T): 161. DOI: <https://doi.org/10.1111/eci.13109>
 95. Danielyan L., Schäfer R., von Ameln-Mayerhofer A., Buadze M., Geisler J., Klopfer T., Burkhardt U., Proksch B., Verleysdonk S., Ayturan M., Buniatian G.H., Gleiter C.H., Frey W.H. Intranasal delivery of cells to the brain. *Eur. J. Cell Biol.* 2009 Jun; 88(6): 315-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2009.02.001>
 96. Kulchitsky V., Zamaro A., Shanko Y., Koulchitsky S. Prospects of Perineural Implantation of Stem Cells in Recovery of Neural Network's Functions in Brain Diseases. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* 2018 Oct 26; 10(3) 7834-37. DOI: <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.10.001959>
 97. Kulchitsky V., Zamaro A., Shanko Y., Koulchitsky S. Positive and negative aspects of cell technologies in cerebral diseases. *J. Neurol. Stroke.* 2018 Mar 15; 8(2): 87-88. DOI: <https://doi.org/10.15406/jnsk.2018.08.00286>
 98. Kjell J., Fischer-Sternjak J., Thompson A.J., Friess C., Sticco M.J., Salinas F., Cox J., Martinelli D.C., Ninkovic J., Franze K., Schiller H.B., Götz M. Defining the Adult Neural Stem Cell Niche Proteome Identifies Key Regulators of Adult Neurogenesis. *Cell Stem Cell.* 2020 Feb 6; 26(2): 277-293.e8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.01.002>
 99. Cox C.S., Hetz R.A., Liao G.P., Aertker B.M., Ewing-Cobbs L., Juranek J., Savitz S.I., Jackson M.L., Romanowska-Pawliczek A.M., Triolo F., Dash P.K., Pedroza C., Lee D.A., Worth L., Aisiku I.P., Choi H.A., Holcomb J.B., Kitagawa R.S. Treatment of severe adult traumatic brain injury using bone marrow mononuclear cells. *Stem Cells.* 2017 Apr; 35(4): 1065-79. DOI: <https://doi.org/10.1002/stem.2538>
 100. Wang S., Cheng H., Dai G., Wang X., Hua R., Liu X., Wang P., Chen G., Yue W., An Y. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation significantly improves neurological function in patients with sequelae of traumatic brain injury. *Brain Res.* 2013 Sep 26; 1532: 76-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.08.001>
 101. Liao G.P., Harting M.T., Hetz R.A., Liao G.P., Harting M.T., Hetz R.A., Walker P.A., Shah S.K., Corkin C.J., Hughes T.G., Jimenez F., Kosmach S.C., Day M.-C., Tsao K., Lee D.A., Worth L.L., Baumgartner J.E., Cox C.S. Autologous bone marrow mononuclear cells reduce therapeutic intensity for severe traumatic brain injury in children. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2015 Mar; 16(3): 245-55. DOI: <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000000324>
 102. Tian C., Wang X., Wang X., Wang L., Wang X., Wu S., Wan Z. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell therapy in the subacute stage of traumatic brain injury by lumbar puncture. *Exp. Clin. Transplant.* 2013 Apr; 11(2): 176-81. DOI: <https://doi.org/10.6002/ect.2012.0053>
 103. Zhang Z.X., Guan L.X., Zhang K., Zhang Q., Dai L.J. A combined procedure to deliver autologous mesenchymal stromal cells to patients with traumatic brain injury. *Cytotherapy.* 2008; 10(2): 134-9. DOI: <https://doi.org/10.1080/14653240701883061>
 104. Torrente D., Avila M., Cabezas R., Morales L., Gonzalez J., Samudio I., Barreto G.E. Paracrine factors of human mesenchymal stem cells increase wound closure and reduce reactive oxygen species production in a traumatic brain injury in vitro model. *Hum. Exp. Toxicol.* 2014 Jul; 33(7): 673-84. DOI: <https://doi.org/10.1177/0960327113509659>
 105. Kulchitsky V., Zamaro A., Navitskaya V., Koulchitsky S., Shanko Y. Regulatory Effects of Mesenchymal Stem Cells in Brain. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.*

- 2018 Nov 14; 11(1): 1-3. DOI: <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.11.002039>
106. Najar M., Raicevic G., Fayyad-Kazan H., De Bruyn C., Bron D., Tounouz M., Lagneaux L. Impact of different mesenchymal stromal cell types on T-cell activation, proliferation and migration. *Int. Immunopharmacol.* 2013 Apr; 15(4): 693-702. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.02.020>.
107. Lenzlinger P.M., Morganti-Kossmann M.-C., Laurer H.L., McIntosh T.K. The duality of the inflammatory response to traumatic brain injury. *Mol. Neurobiol.* 2001 Aug-Dec; 24(1-3): 169-81. DOI: <https://doi.org/10.1385/MN:24:1-3:169>
108. Kouroupis D., Correa D. Increased Mesenchymal Stem Cell Functionalization in Three-Dimensional Manufacturing Settings for Enhanced Therapeutic Applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021 Feb 12; 9: 621748. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.621748>.
109. Kim H.-J., Lee J.-H., Kim S.-H. Therapeutic effects of human mesenchymal stem cells on traumatic brain injury in rats: secretion of neurotrophic factors and inhibition of apoptosis. *J Neurotrauma.* 2010 Jan; 27(1): 131-8. DOI: <https://doi.org/10.1089/neu.2008-0818>
110. Kumagai G., Tsoulfas P., Toh S., McNiece I., Bramlett H.M., Dietrich W.D. Genetically modified mesenchymal stem cells (MSCs) promote axonal regeneration and prevent hypersensitivity after spinal cord injury. *Exp. Neurol.* 2013 Oct; 248: 369-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.06.028>
111. Mead B., Scheven B.A. Mesenchymal stem cell therapy for retinal ganglion cell neuroprotection and axon regeneration. *Neural Regen. Res.* 2015 Mar; 10(3): 371-3. DOI: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.153681>
112. Parr A.M., Tator C.H., Keating A. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for the repair of central nervous system injury. *Bone Marrow Transplant.* 2007 Oct; 40(7): 609-19. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1705757>
113. Djouad F., Plence P., Bony C., Tropel P., Apparailly F., Sany J., Noël D., Jorgensen C. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. *Blood.* 2003 Nov 15; 102(10): 3837-44. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2003-04-1193>

Article history
Received: 05.03.2021
Revision requested: 14.03.2021
Revision received: 26.03.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

МЕЗЕНХІМАЛЬНІ СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ У КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ТРАВМИ МОЗКУ

¹ Шанько Ю.Г., ² Кривенко С.І., ³ Гончаров В.В., ¹ Новицька В.В., ⁴ Замаро А.С., ¹ Танін А.Л.,
¹ Нехай М.А., ⁴ Токальчик Ю.П., ¹ Новикова Л.А., ⁵ Колядич З.В., ⁴ Кульчицький В.А.

¹ Республіканський науково-практичний центр неврології та нейрохірургії, Мінськ, Білорусь

² 9 Городская клиническая больница, Мінськ, Білорусь

³ Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Мінськ, Білорусь

⁴ Институт физиологии Национальной академии наук, Мінськ, Білорусь

⁵ Государственное учреждение «Национальный онкологический центр Беларуси имени Н.Н. Александрова»,
Лесной, Минский район, Білорусь

vladi@fizio.bas-net.by

Актуальність. Проблема ефективної профілактики і терапії травм головного мозку різної етіології не вирішена в усіх країнах світу. Первинне ураження мозку при травмі ініціює вторинні пошкодження нервової тканини. В результаті порушується взаємодія нейронних мереж головного мозку і послаблюється контроль соматичних і вісцеральних функцій організму. У статті на підставі власних клінічних спостережень і зіставлення результатів з літературними відомостями обговорюються перспективи застосування клітинних технологій для запобігання фатальних порушень контролю вітальних функцій після травматичного пошкодження мозку – traumatic brain injury (TBI).

Мета: оцінити ефективність застосування інтраназальної періневральної імплантації мезенхімальних стовбурових клітин (MSCs) у комплексній терапії пацієнтів з TBI.

Матеріали та методи. У 15 пацієнтів з важкою TBI застосовували у комплексній терапії методику інтраназального періневрального введення MSCs. Вік пацієнтів 19 ÷ 69 років; чоловіків 13 і 2 жінки. З жирової тканини черевної стінки пацієнта виділяли суспензію клітин, які центрифугували 10 хв зі швидкістю 1500 об/хв. Клітинний осад відмивали у фосфатному буферному розчині і в середовищі DMEM. Клітини культивували в пластикових культуральних флаконах у зволоженій атмосфері з 5% вмістом CO₂. У день імплантації клітинну масу трипсинізували за стандартною методикою і ресуспендували у фізіологічному розчині. Контролювали динаміку росту культури, поліпотентність, фенотипування MSCs. MSCs вводили під загальним наркозом в підслизову оболонку порожнини носа 3-4-кратно з інтервалом 3-7 днів, в залежності від темпів зростання MSCs, в разовій дозі від 12.0×10⁶ до 35.0×10⁶ клітин.

Результати. Використання в комплексному лікуванні хворих на важку TBI алогенних і переважно аутологічних MSCs жирової тканини шляхом їх інтраназальної періневральної доставки в область травматичного ушкодження головного мозку не викликає ускладнень і є безпечним методом. У 8 пацієнтів з важкою TBI функції мозку через 6 місяців за Glasgow Outcome Scale Extended оцінювалися від 4 до 7 балів, в середньому 5.4±1.1 бала. Основний результат полягає в тому, що проведення комп-

лексної терапії, яка включає інтраназальну імплантацію MSCs в гострому і підгострому періоді важкої ТБІ, сприяє виживанню пацієнтів і відновленню контролю неврологічних, в тому числі когнітивних, функцій.

Висновки. Продемонстровано ефективність застосування інтраназальної периневральної імплантації MSCs у комплексній терапії пацієнтів з ТБІ. Механізми позитивних ефектів периневральної імплантації MSCs пацієнтам з ТБІ вимагають додаткового вивчення.

Ключові слова: травма мозку, пацієнти, клітинна терапія, інтраназальний метод, механізми.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ТРАВМЫ МОЗГА

¹ Шанько Ю.Г., ² Кривенко С.И., ³ Гончаров В.В., ¹ Новицкая В.В., ⁴ Замаро А.С.,
¹ Танин А.Л., ¹ Нехай М.А., ⁴ Токальчик Ю.П., ¹ Новикова Л.А., ⁵ Колядич З.В., ⁴ Кульчицкий В.А.

¹ Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь

² 9 Городская клиническая больница, Минск, Беларусь

³ Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Минск, Беларусь

⁴ Институт физиологии Национальной академии наук, Минск, Беларусь

⁵ Государственное учреждение «Национальный онкологический центр Беларуси имени Н.Н. Александрова», Лесной, Минский район, Беларусь

vladi@fizio.bas-net.by

Актуальность. Проблема эффективной профилактики и терапии травм головного мозга различной этиологии не решена во всех странах мира. Первичное поражение мозга при травме инициирует вторичные повреждения нервной ткани. В результате нарушается взаимодействие нейронных сетей головного мозга и ослабляется контроль соматических и висцеральных функций организма. В статье на основании собственных клинических наблюдений и сопоставления результатов с литературными сведениями обсуждаются перспективы применения клеточных технологий для предотвращения фатальных нарушений контроля витальных функций после травматического повреждения мозга – traumatic brain injury (TBI).

Цель: оценить эффективность применения интраназальной периневральной имплантации мезенхимальных стволовых клеток (MSCs) в комплексной терапии пациентов с ТБІ.

Материалы и методы. У 15 пациентов с тяжелой ТБІ применяли в комплексной терапии методику интраназального периневрального введения MSCs. Возраст пациентов 19÷69 лет; мужчин 13 и 2 женщины. Из жировой ткани брюшной стенки пациента выделяли суспензию клеток, которые центрифугировали 10 мин со скоростью 1500 об/мин. Клеточный осадок отмывали в фосфатном буферном растворе и в среде DMEM. Клетки культивировали в пластиковых культуральных флаконах в увлажненной атмосфере с 5% содержанием CO₂. В день имплантации клеточную массу трипсинизировали по стандартной методике и ресуспендировали в физиологическом растворе. Контролировали динамику роста культуры, полипотентность, фенотипирование MSCs. MSCs вводили под общим наркозом в подслизистую оболочку полости носа 3-4-кратно с интервалом 3-7 дней, в зависимости от темпов роста MSCs, в разовой дозе от 12.0×10⁶ до 35.0×10⁶ клеток.

Результаты. Использование в комплексном лечении пациентов с тяжелой ТБІ аллогенных и преимущественно аутологичных MSCs жировой ткани путем их интраназальной периневральной доставки в область травматического повреждения головного мозга не вызывает осложнений и является безопасным методом. У 8 пациентов с тяжелой ТБІ функции мозга через 6 месяцев по Glasgow Outcome Scale Extended оценивались от 4 до 7 баллов, в среднем 5.4±1.1 балла. Основным результатом заключается в том, что проведение комплексной терапии, включающей интраназальную имплантацию MSCs в остром и подостром периоде тяжелой ТБІ, способствует выживанию пациентов и восстановлению контроля неврологических, в том числе когнитивных, функций.

Выводы. Продемонстрирована эффективность применения интраназальной периневральной имплантации MSCs в комплексной терапии пациентов с ТБІ. Механизмы позитивных эффектов периневральной имплантации MSCs пациентам с ТБІ требуют дополнительного изучения.

Ключевые слова: травма мозга, пациенты, клеточная терапия, интраназальный метод, механизмы.

MULTISYSTEM INFLAMMATORY SYNDROME IN CHILDREN: DIAGNOSTIC MARKERS AND FEATURES OF PHARMACOTHERAPY

¹ *Khaitovych M.V.* <https://orcid.org/0000-0001-6412-3243>

² *Voroniuk L.M.* <https://orcid.org/0000-0002-6687-0573>

² *Borisova G.Yu.* <https://orcid.org/0000-0002-9041-5669>

² *Diudenko NV.* <https://orcid.org/0000-0002-7851-1017>

² *Miagka N.M.* <https://orcid.org/0000-0001-5904-0603>

¹ *Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine*

² *KNP «Kyiv City Children's Clinical Hospital No. 2», Kyiv, Ukraine*

nik3061@gmail.com

Relevance. In 2020, children were hospitalized with fever and multisystem inflammation throughout the world during the COVID-19 pandemic. In the United States, this condition is called MIS-C (Multisystem Inflammatory Syndrome in Children). This syndrome is thought to be similar to the severe course of COVID-19 in adults (cytokine storm).

The objective of the work is to evaluate the features of the course and pharmacotherapy of multisystem inflammatory syndrome in children.

Materials and methods. The study included 17 children (10 boys and 7 girls) aged 3-16 years (on average – 9.5 ± 3.4 years). Diagnosis of coronavirus infection was performed by polymerase chain reaction with real-time detection, determined the level of immunoglobulins M and G before coronavirus infection.

Results. The duration of fever in patients was 5-21 days (average 8.1 ± 4.0 days), the duration of inpatient treatment – 7-35 days (average 15.7 ± 7.0 days). Blood albumin levels were reduced in 53.8% of children; the level of fibrinogen was increased in 88.2% of children, the level of C-reactive protein, ferritin and D-dimer – in all patients. 15 (88.2%) children had pathology of the digestive system, 13 (76.5%) – cardiovascular system (7 children were diagnosed with carditis, 2 – dilation of coronary arteries, 7 – cardiac arrhythmia). Acute respiratory distress syndrome was found in a 13-year-old girl, shock – in an 11-year-old boy, 11 children (64.7%) were diagnosed with pathology of the respiratory system (pleurisy, pneumonia), skin and mucous membranes, and 4 children (23.5%) there were manifestations of central nervous system disorders (meningism, decreased reflexes, ataxia), in 2 (11.8%) – renal failure. On average, each patient had lesions of 3.9 ± 1.2 systems.

Conclusions. MIS-C was manifested by prolonged fever, high levels of laboratory markers of inflammation, hypoalbuminemia, hypercoagulation, often – pathological manifestations of the cardiovascular, digestive, respiratory systems, skin and mucous membranes. The treatment included intravenous immunoglobulin, steroids, anticoagulant and antibacterial therapy and was effective.

Key words: multisystem inflammatory syndrome, children.

Relevance. In 2020, hospitalization of children who developed fever and multisystem inflammation during the COVID-19 pandemic was registered in different countries of the world. Although most children had a mild course of COVID-19 infection [9], some were hospitalized in critical condition with shock and multiorgan failure and required intensive care, some had symptoms similar to those seen in Kawasaki syndrome (but the disease was accompanied by shock). In the United States, this condition is called MIS-C (multisystem inflammatory syndrome in children), in the UK – PIMS-TS (pediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with COVID-19) [1]. The definition states that this syndrome is associated with coronavirus infection over time. Thus, many children who developed this syndrome were found to have antibodies to SARS-CoV-2 [12], although virus tests did not always show a positive result. Some doubts about the association of this syndrome with COVID-19 infection were due to the fact that only in a small number

of patients the manifestations of MIS-C were detected against the background of acute SARS-CoV-2 – this led to think that these are manifestations of various diseases [3].

Over the past six months, both individual cases of the disease [10,11] and literature reviews have been published and the results of many individual studies have been summarized. It has been proven that multisystem inflammatory syndrome often occurs in the late stages of the disease, can be observed in children who were previously completely healthy, 3-4 weeks after asymptomatic infection.

It is believed that this syndrome is analogous to the severe course of COVID-19 in adults (cytokine storm). It is caused by the body's excessive immune response to COVID-19. This develops a variant of virus-induced secondary hemophagocytic syndrome [7], which is massive, uncontrolled, often fatal activation of the immune system, the release of pro-inflammatory cytokines (TNF-alpha, IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10,

granulocyte colony-stimulating factor, monocyte chemoattractive protein-1 and markers of inflammation (C-reactive protein, serum ferritin), which can lead to the development of acute respiratory distress syndrome, multiple organ failure and can cause patient death.

Mostly MIS-C was found in children aged 3-12 years, less common in adolescents and young children, but also described in newborns [2]. There were mainly lesions of the heart, blood vessels, kidneys, digestive system, brain, skin and eyes. The following symptoms are typical: fever that lasts more than a day; feeling tired; intense abdominal pain, which may be accompanied by vomiting and/or diarrhea; chest pain; rapid heartbeat; dyspnea; lowering blood pressure; cyanosis of the lips or face; «Brain fog», skin rash; redness of the eyes; swelling of the extremities, lips and tongue. Thus, according to Indian researchers, 100% of children with this syndrome have a fever, 80% – neurological disorders, half – pathology of the lower respiratory tract, 35% – rash, 25% – acute gastroenteritis [5].

The objective of the work is to evaluate the features of the course and pharmacotherapy of multisystem inflammatory syndrome in children.

MATERIALS AND METHODS

The study included 17 children (10 boys and 7 girls) aged 3-16 years (on average – 9.5 ± 3.4 years). All patients were of normal physical development (average body mass index was 18.8 ± 2.8 kg/m²).

The examination plan included a general clinical study, also determined the levels of albumin, C-reactive protein, ferritin, fibrinogen, procalcitonin, D-dimer in plasma. Ultrasound examination was performed using a MyLab X6 device according to a standard protocol. General clinical blood test was performed on an automatic hematological analyzer SwelabAlfa, MedonicM-series, Quintus.

Diagnosis of coronavirus infection was performed by polymerase chain reaction with real-time detection using a test system for COVID-19 (Korea). Determination of immunoglobulins M and G for coronavirus infection, D-dimer was performed on an automatic immunofluorescence analyzer miniVIDAS, coagulogram - on a semi-automatic hematological coagulometer CA52.

Statistical processing of the research results was carried out using a licensed office suite Microsoft Excel 2010 and SPSS 22.3. The results were considered reliable at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

In most cases, children complained (Table 1) of a prolonged increase in body temperature (body temperature above 38.0°C was registered in 1 child, above 38.5°C – in the remaining 16 children); abdominal pain (88.2%);

nausea (82.3%); vomiting (70.6%); diarrhea (29.4%); muscle weakness (82.3%); skin rash (64.7%); redness of the eyes (70.6%), difficulty breathing (17.6%).

Table 1

Frequency (%) of complaints in children with MIS-C

Complaint	The number of children	
	absolute	%
Headache	9	52,9
Muscle weakness	14	82,3
Abdominal pain	15	88,2
Nausea	14	82,3
Vomiting	12	70,6
Diarrhea	5	29,4
Conjunctivitis	12	70,6
Skin rash	11	64,7
Difficulty breathing	3	17,6

According to the results of objective and instrumental research (Table 2), in 15 (88.2%) children revealed pathology of the digestive system. 13 children (76.5%) were diagnosed with cardiovascular lesions, including 7 children with carditis, 2 children with dilation of coronary arteries, and 7 with cardiac arrhythmia. Acute respiratory distress syndrome was detected in 1 child (13-year-old girl), shock – in an 11-year-old boy. Eleven children (64.7%) were diagnosed with pathology of the respiratory system (pleurisy, pneumonia), skin and mucous membranes. In 4 children (23.5%) there were manifestations of central nervous system disorders (meningism, decreased reflexes, ataxia), in 2 children (11.8%) – renal failure.

On average, each patient had lesions of 3.9 ± 1.2 systems, often with a combination of lesions of the digestive tract, skin and mucous membranes, cardiovascular and respiratory disorders.

Generally, the level of fibrinogen was increased in 88.2% of children, the level of C-reactive protein, ferritin and D-dimer was increased in all patients. The average values of laboratory parameters are shown in table 3. The average level of ferritin was $403,0 \pm 314,3$ ng/ml, C-reactive protein – $75,4 \pm 56,7$ mg/l, D-dimer – $3033,1 \pm 2395,0$ ng/ml, Albumin – $36,0 \pm 4,4$ g/l, Fibrinogen – $4,9 \pm 1,7$ g/l, Procalcitonin – $2,6 \pm 4,5$ ng/ml.

The level of blood albumin was reduced in 53.8% of children and was at the level of 27-37 g/l, while in other patients the level of albumin, although within the age limit, but close to the lower limit (38-43 g/l), a significant ($p < 0.05$) negative correlation was found between the level of albumin in the blood and the duration of the fever period ($r = -0.71$).

The treatment of 11 children included intravenous immunoglobulin, all children – dexamethasone, 10 children – methylprednisolone, 14 children – acetylsalicylic acid, 1 child – epinephrine, 1 child – heparin, 5 children – enoxyparin.

Table 2

Frequency (%) of lesions of different systems in children with MIS-C

Affected system	Number of children	
	absolute	%
Cardiovascular (carditis, pericarditis, cardiac arrhythmias)	13	76,5
Respiratory (shortness of breath, pneumonia, pleurisy)	11	64,7
Shock	1	5,9
Acute respiratory distress syndrome	1	5,9
Digestive (abdominal pain, loss of appetite, nausea, vomiting)	15	88,2
Renal failure	2	11,8
Central nervous (ataxia, meningism)	4	23,5
Skin and mucous membranes	11	64,7

Table 3

Average values (X±SD) of laboratory parameters of children with MIS-C

Characteristics of the examined children	Average value (X ± SD)
Ferritin, ng/ml	403,0±314,3
C-reactive protein, mg/l	75,4±56,7
D-dimer, ng/ml	3033,1±2395,0
Albumin, g/l	36,0±4,4
Procalcitonin, ng/ml	2,6±4,5
Fibrinogen, g/l	4,9±1,7
Neutrophils × 10 ⁹ /l	8,3±4,6
Lymphocytes × 10 ⁹ /l	1,6±1,0

Considering the risk of bacterial infection, all patients received antibiotic therapy, mainly 3rd generation cephalosporins: 13 patients received ceftriaxone, including 9 as monotherapy, 2 children - ceftazidime and cefixime, 1 child was included in the treatment regimen of cefipime, 3 children received amikacin, 3 children – vancomycin, 2 children – levofloxacin.

The duration of fever in the examined patients was 5-21 days (average 8.1±4.0 days the length of stay in hospital was 7-35 days (on average 15.7±7.0 days).

Thus, we considered the course of a new disease in children associated with the SARS-CoV-2 virus. The syndrome involves many organs: the heart, lungs, gastrointestinal tract, nervous system, skin and mucous membranes. The results of our study coincide with those previously described in the literature [8]. We confirmed that this condition is mainly observed in children aged 3-12 years (76.5%) and in all patients laboratory manifestations of inflammation and hypercoagulation (sharply elevated levels of C-reactive protein, ferritin, fibrinogen and D-dimer). We found a close inverse correlation between the length of the fever and the blood albumin levels of children with

MIS-C. Other researchers have also found low albumin levels in MIS-C [6].

It should be noted that in clinics abroad, the complex treatment of MIS-C patients included an interleukin-1 receptor antagonist anakinra [4], interleukin-6 receptor blockers (example tocilizumab) and a tumor necrotic factor antagonist (example infliximab). Our experience has confirmed the effectiveness of intravenous immunoglobulin, dexamethasone, anticoagulant therapy in the treatment of children with multisystem inflammatory syndrome.

CONCLUSIONS

Multisystem inflammatory syndrome in children is an analogue of the cytokine storm in COVID-19 infection in adults. The disease is manifested by prolonged fever, high levels of laboratory markers of inflammation, hypoalbuminemia, hypercoagulation, often pathological manifestations of the cardiovascular, digestive and respiratory systems, skin and mucous membranes. The complex of treatment, which included intravenous immunoglobulin, steroids, anticoagulant and antibacterial therapy, proved to be effective.

REFERENCES

1. Ahmed M., Advani S., Moreira A., Zoreti S., Martinez J. et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: A systematic review. *EClinicalMedicine*. 2020 Sep 01; 26: 100527. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100527. View at: Publisher Site: [https://www.thelancet.com/journals/eclinm/article/PIIS2589-5370\(20\)30271-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/eclinm/article/PIIS2589-5370(20)30271-6/fulltext) Scholar: <https://scholars.uthscsa.edu/en/publications/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-a-systematic-review> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/32923992>
2. Borkotoky R.K., Barua P.B., Paul S.P., Heaton P.A. COVID-19-related Potential Multisystem Inflammatory Syndrome in Childhood in a Neonate Presenting as Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn. *Pediatr Infect Dis J*. 2021 Jan 12. Online ahead of print. DOI: 10.1097/inf.0000000000003054 View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/pidj/Abstract/9000/COVID_19_related_Potential_Multisystem.95900.aspx PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33464010/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/33464010>
3. Esposito S., Principi N. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children Related to SARS-CoV-2. *Paediatr Drugs*. 2021 Jan 22; 1-11. Online ahead of print. DOI: 10.1007/s40272-020-00435-x. View at: Publisher Site: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40272-020-00435-x>
4. Fouriki A., Fougère Y., De Camaret C., Rohner

- G.B., Grazioli S., Wagner N. et al. Case Report: Case Series of Children With Multisystem Inflammatory Syndrome Following SARS-CoV-2 Infection in Switzerland. *Front Pediatr.* 2021 Jan 5; 8: 594127. DOI: 10.3389/fped.2020.594127.
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2020.594127/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33469522/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7813982/>
5. Gupta S., Chopra N., Singh A., Gera R., Chellani H. Pandey R., Arora B.S. Unusual Clinical Manifestations and Outcome of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) in a Tertiary Care Hospital of North India. *J Trop Pediatr.* 2021 Jan 29; 67(1): fmaa127. DOI: 10.1093/tropej/fmaa127
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/tropej/article-abstract/67/1/fmaa127/6123399?redirectedFrom=fulltext>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33513240/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/33513240>
 6. Kest H., Kaushik A., DeBruin W., Colletti M., Goldberg D. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children (MIS-C) Associated with 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Infection. *Case Reports in Pediatrics.* 2020. 2020: Article ID 8875987, 4 pages. DOI: 10.1155/2020/8875987
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/cripe/2020/8875987/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32733733/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7383305/>
 7. Kwak J.H., Lee S.-Y., Choi J.-W. Korean Society of Kawasaki Disease. 2020. Clinical features, diagnosis, and outcomes of multisystem inflammatory syndrome in children associated with coronavirus disease. 2019. *Clinical and Experimental Pediatrics* 2021; 64(2): 68-75. DOI: 10.3345/cep.2020.01900
View at: Publisher Site: <https://www.e-cep.org/journal/view.php?doi=10.3345/cep.2020.01900>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33445833/>
PubMed Central: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc7873390/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/33445833>
 8. Mehra B., Aggarwal V., Kumar P., Kundal M., Gupta D., Kumar A. et al. COVID-19-associated Severe Multisystem Inflammatory Syndrome in Children with Encephalopathy and Neuropathy in an Adolescent Girl with the Successful Outcome: An Unusual Presentation. *Indian J Crit Care Med.* 2020; 24(12): 1276-8. DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23685
View at: Publisher Site: <https://www.ijccm.org/doi/pdf/10.5005/jp-journals-10071-23685>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33446986/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/research/coronavirus/publication/33446986>
 9. Müller J., Oberhoffer R., Brudy L., Ewert P. COVID-19 and paediatric patient involvement (cardiovascular aspects). *Eur Heart J Suppl.* 2020 Dec 23; 22(Suppl Pt t): P19-P24. DOI: 10.1093/eurheartj/suaa168
View at: Publisher Site: https://academic.oup.com/eurheartjsupp/article/22/Supplement_P/P19/6046108
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33390865/>
PubMed Central: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc7757714/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/33390865>
 10. Mustafa M.R., Carter M.J., Wong J., Bell A., Salih C. Coronary aneurysms, myocardial dysfunction, and shock in a COVID-19 child, role of ECMO, immunomodulation, and cardiac CT. *Cardiol Young.* 2021 Jan 28; 1-5. DOI: 10.1017/s1047951121000147
View at: Publisher Site: <https://www.cambridge.org/core/journals/cardiology-in-the-young/article/abs/coronary-aneurysms-myocardial-dysfunction-and-shock-in-a-covid19-child-role-of-ecmo-immunomodulation-and-cardiac-ct/49B5F4C159FB2FDE1D63B9C30C1C085D>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33504377/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/33504377>
 11. Navaeifar M. R., Shahbaznejad L., Lotfabadi A.S., Rezai M.S. COVID-19-Associated Multisystem Inflammatory Syndrome Complicated with Giant Coronary Artery Aneurysm. *Case Rep Pediatr.* 2021; 2021: Article ID 8836403. DOI: 10.1155/2021/8836403
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/cripe/2021/8836403/>
 12. Schwartz A., Belot A., Kone-Paut I. Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome and Rheumatic Diseases During SARS-CoV-2 Pandemic. *Front Pediatr.* 2020; 8: 605807. DOI: 10.3389/fped.2020.605807.
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2020.605807/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33344389/>
PubMed Central: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc7746854/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/33344389>

Article history:
Received: 13.02.2021
Revision requested: 21.02.2021
Revision received: 28.02.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

МУЛЬТИСИСТЕМНИЙ ЗАПАЛЬНИЙ СИНДРОМ У ДІТЕЙ: МАРКЕРИ ДІАГНОСТИКИ ТА ОСОБЛИВОСТІ ФАРМАКОТЕРАПІЇ

¹Хайтович М.В., ²Воронюк Л.М., ²Борисова Г.Ю., ²Дюдєнко Н.В., ²Мягка Н.М.

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

²КНП «Київська міська дитяча клінічна лікарня № 2», Київ, Україна

nik3061@gmail.com

Актуальність. У 2020 році у різних країнах світу зареєстровано госпіталізацію дітей, у яких в період пандемії COVID-19 виникла лихоманка і мультисистемне запалення. У США даний стан отримав назву MIS-C (multisystem inflammatory syndrome in children). Вважається, що даний синдром є аналогом тяжкого перебігу COVID-19 у дорослих (цитокіновий шторм).

Мета – оцінити особливості перебігу та фармакотерапії мультисистемного запального синдрому у дітей.

Матеріали та методи. Під наглядом знаходилося 17 дітей (10 хлопчиків та 7 дівчаток) віком 3-16 років (в середньому – 9,5±3,4 роки). Діагностику коронавірусної інфекції проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з детекцією в режимі реального часу, визначали рівень імуноглобулінів М та G до коронавірусної інфекції.

Результати. Тривалість лихоманки у пацієнтів становила 5-21 добу (в середньому 8,1±4,0 днів), тривалість перебування на стаціонарному лікуванні – 7-35 днів (в середньому 15,7±7,0 днів). Рівень альбуміну крові був знижений у 53,8% дітей; рівень фібриногену був підвищений у 88,2% дітей, рівень С-реактивного білка, феритину та D-димеру – у всіх пацієнтів. У 15 (88,2%) дітей виявлено патологію травної системи, у 13 (76,5%) – серцево-судинної системи (у 7 дітей діагностовано кардит, у 2 – розширення коронарних артерій, у 7 – аритмію серця). Гострий респіраторний дистрес-синдром виявлено у 13-річної дівчинки, шок – у 11-річного хлопчика. У 11 дітей (64,7%) діагностовано патологію дихальної системи (плеврит, пневмонію тощо), шкіри та слизових оболонок. У 4 дітей (23,5%) відмічено прояви порушення центральної нервової системи (менінгізм, зниження рефлексів, атаксію), у 2 (11,8%) – ниркової недостатності. В середньому у кожного пацієнта було відмічено ураження 3,9±1,2 систем.

Висновки. MIS-C виявлявся тривалою лихоманкою, високими рівнями лабораторних маркерів запалення, гіпоальбумінемією, гіперкоагуляцією, часто – патологічними проявами з боку серцево-судинної, травної, дихальної систем, шкіри та слизових оболонок. Комплекс лікування включав імуноглобулін внутрішньовенно, стероїди, антикоагулянтну та антибактеріальну терапію і був ефективним.

Ключові слова: мультисистемний запальний синдром, діти.

МУЛЬТИСИСТЕМНЫЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ СИНДРОМ У ДЕТЕЙ: МАРКЕРЫ ДИАГНОСТИКИ И ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОТЕРАПИИ

¹Хайтович Н.В., ²Воронюк Л.М., ²Борисова Г.Ю., ²Дюдєнко Н.В., ²Мягкая Н.Н.

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

²КНП «Киевская городская детская клиническая больница № 2», Киев, Украина

nik3061@gmail.com

Актуальность. В 2020 году в разных странах мира зарегистрирована госпитализация детей, у которых в период пандемии COVID-19 возникла лихорадка и мультисистемное воспаление. В США данное состояние получило название MIS-C (multisystem inflammatory syndrome in children). Считается, что данный синдром является аналогом тяжелого течения COVID-19 у взрослых (цитокинный шторм).

Цель – оценить особенности течения и фармакотерапии мультисистемного воспалительного синдрома у детей.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 17 детей (10 мальчиков и 7 девочек) в возрасте 3-16 лет (в среднем – 9,5 ± 3,4 года). Диагностику коронавирусной инфекции проводили методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени, определяли уровень иммуноглобулинов М и G к коронавирусной инфекции.

Результаты. Продолжительность лихорадки у обследованных пациентов составила 5-21 суток (в среднем 8,1 ± 4,0 суток), продолжительность пребывания на стационарном лечении – 7-35 суток (в среднем 15,7 ± 7,0 суток). Уровень альбумина крови был снижен у 53,8% детей; уровень фибриногена был повышен у 88,2% детей, уровень С-реактивного белка, ферритина и D-димера – у всех пациентов. У 15 (88,2%) детей выявлена патология пищеварительной системы, у 13 (76,5%) сердечно-сосудистой системы (у 7 детей диагностирован кардит, у 2 – расширение коронарных артерий, у 7 – аритмия сердца). Острый респираторный дистресс-синдром выявлен у 13-летней девочки, шок – у 11-летнего мальчика. У 11 детей (64,7%) диагностирована патология дыхательной системы (плеврит, пневмония и т.д.), кожи и слизистых оболочек; у 4 детей (23,5%) выявлены нарушения центральной нервной системы (менингизм, снижение рефлексов, атаксия), у 2 (11,8%) – проявления почечной недостаточности. В среднем, у каждого пациента было отмечено поражение 3,9 ± 1,2 систем.

Выводы. MIS-C выявлялся длительной лихорадкой, высокими уровнями лабораторных маркеров воспаления, гипоальбуминемией, гиперкоагуляцией, часто – патологическими проявлениями со стороны сердечно-сосудистой, пищеварительной, дыхательной систем, кожи и слизистых оболочек. Комплекс лечения включал иммуноглобулин внутривенно, стероиды, антикоагулянтную и антибактериальную терапию и был эффективен.

Ключевые слова: мультисистемный воспалительный синдром, дети.

FEATURES OF KIDNEY DAMAGE IN HIV-INFECTED

Moskalyuk V.D. <https://orcid.org/0000-0002-4104-8153>*Andrushchak M.O.* <https://orcid.org/0000-0002-79008674>*Sokolenko M.O.* <https://orcid.org/0000-0002-7150-7146>*Balanyuk I.V.* <https://orcid.org/0000-0002-3258-9791>*Boyko Y.I.* <https://orcid.org/0000-0001-6542-6844>*Bukovynian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine**margaritaassistant@gmail.com*

Relevance. In HIV-infected patients, renal disease, which is characterized by severe clinical manifestations, can significantly affect the prognosis of life. Given the growing number of HIV-infected people in the world and the increase in the life expectancy of such patients, an increase in the number of HIV-infected people in need of expensive renal replacement therapy, as well as kidney transplantation, should be expected. But the question of the nature of kidney damage in HIV infection in Ukraine is still insufficiently covered.

The objective of the work is to establish the clinical and laboratory features of kidney damage in HIV infection.

Materials and methods. 292 patients with HIV were examined. Screening for markers of kidney damage (albuminuria/proteinuria) was performed by test systems (using urine strips). The results obtained with the help of test strips were considered as indicative. In the presence of $\geq 1+$ proteinuria in the screening test, which corresponded to a gradation of 30 mg/l, repeated urine analyzes were performed with quantitative determination of protein on a spectrophotometer, separated in time from 3 days to one week. The functional state of the kidneys was assessed by an integrated indicator that characterizes the degree of preservation/loss of mass of active nephrons. The criterion for renal impairment was a decrease in glomerular filtration rate (GFR) < 60 ml/min by 1.73 m². Chronic kidney disease was diagnosed when proteinuria or proteinuria was detected in combination with a decrease in GFR for 3 months or more.

Results. Based on the main markers of renal damage (persistent proteinuria (PU) and glomerular filtration rate < 60 ml/min/1.73m²), 48 people were diagnosed with chronic kidney disease, which was often accompanied by dysfunction of these organs. Based on the analysis of complaints, anamnestic data and clinical symptoms of kidney damage, patients were divided into 2 groups. The first group (n = 31, or 64.6%) - patients with tubulointerstitial, the second group (n = 17, or 35.4%) - patients with glomerular diseases. Increased PU levels are accompanied by significantly significant renal impairment and more frequent combination with hypertension and hematuria in the absence of significant differences in the frequency of opportunistic diseases.

Conclusions. In HIV-infected kidney damage is most often characterized by their tubulointerstitial lesions. At the same time, glomerular kidney damage, which is much less common, is accompanied by significantly higher levels of HIV RNA.

Key words: HIV infection, chronic kidney disease, tubulointerstitial lesions, glomerular kidney lesions.

Relevance. One of the most important problems of our time is the HIV epidemic. In the 30-year history of this disease, HIV has affected more than 75 million people, of whom almost 30 million adults and children have died [1, 8]. In the coming decades, the disease will continue to play a significant role in global premature mortality rates.

Kidney damage, which is often characterized by severe clinical manifestations, can significantly affect the prognosis of HIV-infected people [3]. Given the growing number of people living with HIV in the world and the increasing life expectancy of such patients, we should also expect an increase in the number of people living with HIV who need expensive kidney replacement therapy, as well as kidney transplants.

The world scientific literature highlights factors associated with kidney disease in HIV infection: history of kidney disease, uncontrolled HIV infection, time spent on HAART, old age, female gender, African descent (APOL1 genetic variant), CD4⁺-lymphocytes count < 200 cells/ml, as well as the use of nephrotoxic drugs [5].

However, despite the large number of foreign publications devoted to this topic, the issue of kidney damage in HIV infection in Ukraine still remains insufficiently covered.

The objective of the work is to establish the clinical and laboratory features of kidney damage in HIV infection.

MATERIALS AND METHODS

We examined 292 HIV-infected patients who were under outpatient care at the Chernivtsi Regional Center for AIDS Prevention and Control.

In establishing the diagnosis, clinical and epidemiological data and the results of laboratory research methods were taken into account: serological and immunological (including determination of CD4⁺-lymphocytes). The initial examination of HIV-infected people was carried out when they were registered at the dispensary in accordance with CP № 580 dated 12.12.2003. The studies met the established standards of the Declaration of Helsinki, adopted in 1964 and revised by the 59th General Assembly of the Military Medical Academy, Seoul, October 2008.

The mean age of all patients was (29.3±8.2) years (range 19 to 55 years). Among the patients there were 188 (64.4%) men and 104 (35.6%) women. The study mainly included young patients (25-44 years).

Among the patients included in the study, the first clinical stage of HIV infection was detected in 26 (8.9%), the second – in 40 (13.7%), the third – in 108 (37.0%) and the fourth clinical stage – in 118 (40.4%) patients.

Correlation analysis of two quantitative traits was carried out by Spearman's ranking method: the relationship between the indicators was considered weak at $r < 0.3$, moderate – at $0.3 < r < 0.7$, strong – at $r > 0.7$. Also statistical the significance of the obtained coefficient was evaluated using Student's t-test).

The amount of HIV in the blood of patients (viral load) was determined in the laboratory of the Ivano-Frankivsk Regional Municipal Center for AIDS Prevention and Control using test systems on equipment manufactured by Hoffman La Roche. The Amplicor HIV-1 MONITOR Test used polymerase chain reaction (PCR) technology to detect very little genetic material (RNA) contained in human immunodeficiency viruses. Virus concentration is described as the number of copies per milliliter of blood plasma (copies/ml). The level of viremia can range from 50 copies/ml to 20 million copies/ml and above.

The results of recent studies [8] suggest that the concentration of HIV virus affects the degree of risk of disease progression. High levels of virus in the blood plasma ($>100,000$ copies of RNA in 1 ml of plasma) indicate rapid progression in AIDS, regardless of the number of CD4+ cells.

The study screened the markers of kidney damage (albuminuria/proteinuria) by test systems using urinary strips (AutionSticks-2EA). The results obtained with the help of test strips were considered as indicative. In the presence of $\geq 1+$ proteinuria in the screening test, which corresponded to a gradation of 30 mg/l, repeated urine analyzes were performed with quantitative determination of protein on a MICROLAB-600 spectrophotometer using UNI-TEST-BM reagents, separated in time from 3 days to one week.

The functional state of the kidneys was assessed by an integrated indicator that characterizes the degree of preservation/loss of mass of active nephrons. The criterion for renal dysfunction was a decrease in glomerular filtration rate (GFR) < 60 ml/min by 1.73 m^2 [7, 9, 10].

Chronic kidney disease was diagnosed when proteinuria or proteinuria was detected in combination with a decrease in GFR for 3 months or more.

A screening study to identify markers of kidney damage (persistent proteinuria, GFR in 3 months or more) in HIV-infected individuals was conducted in accordance with the recommendations of the National Kidney Foundation (Kidney Disease Outcome Quality Initiative, K/DOQI, 2002) and the American Associa-

tion for Infectious Diseases Society of America, IDSA, 2005 [2, 4, 9].

Among the examined patients there were 105 (36.0%) persons with markers of renal damage – albuminuria/proteinuria. Based on the main markers of kidney damage – persistent proteinuria (PU) and $\text{GFR} < 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ – in 16.4% of cases diagnosed with chronic kidney disease (CKD), which was often accompanied by impaired renal function.

HIV-associated nephropathy was found in 48 of 292 (16.4%) patients (31 men, 17 women), in whom the examination revealed and confirmed markers of kidney damage - persistent proteinuria or proteinuria in combination with decreased GFR.

RESULTS AND DISCUSSION

48 HIV-infected individuals with renal impairment had the following characteristic clinical symptoms and CKD syndromes (Fig. 1):

- urinary syndrome, characterized by isolated proteinuria of various degrees, proteinuria in combination with hematuria/leukocyturia;
- arterial hypertension (AH);
- acute nephritic syndrome;
- nephrotic syndrome;
- chronic renal failure.

It was found that every fourth HIV-infected person with CKD had urinary syndrome with isolated PU (27.1%). Most often PU was combined with changes in urinary sediment: erythrocyturia and leukocyturia (17 people – 35.4%) or hematuria (14 patients – 29.2%), and the latter was more often accompanied by $\text{PU} > 1.0 \text{ g/day}$, compared with the group of patients with lower levels of protein in the urine (90.5 and 51.9%, respectively, $p < 0.01$). In 4 patients (8.3%) PU was combined with leukocyturia. It should be noted that more than half of the patients had transient bacterial leukocyturia - more often at $\text{PU} \leq 1.0 \text{ g/day}$.

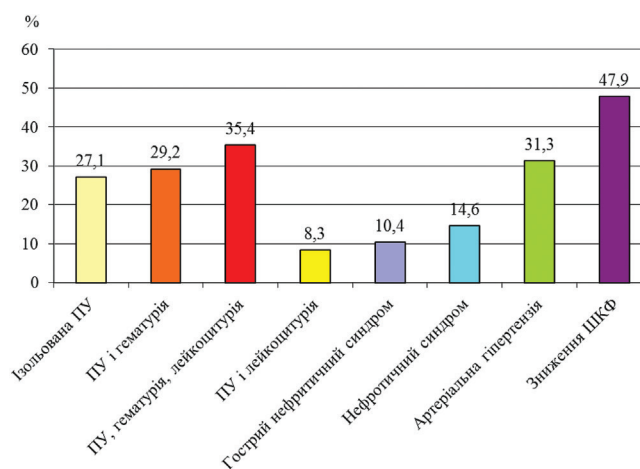


Fig. 1. Frequency of symptoms and syndromes of chronic kidney disease in HIV-infected (n = 48)

AH was diagnosed in 15 patients (31.3%) in the presence of proteinuria compared with 2.5% in its absence ($p < 0.001$). Acute nephritic syndrome was found in 5 patients (10.4%), nephrotic syndrome - in 7 (14.6%), decreased GFR < 60 ml/min/1.73 m² - in 23 people (47.9%).

Based on the analysis of complaints, anamnestic data and clinical symptoms of kidney damage, patients were divided into 2 groups. The first group consisted of 31 (64.6%) with tubulointerstitial diseases, the second - 17 (35.4%) patients with glomerular diseases. As can be seen from the above data, in HIV-infected kidney damage is most often characterized by tubulointerstitial lesions.

Chronic tubulointerstitial kidney disease was characterized by minimal or insignificant PU (0.4 [0.3; 0.8] g/day) (median [interquartile range]), and only in 4 (12.9±6.0)% of patients it exceeded 1 g/day. Isolated PU was observed in 9 (29.0±8.1)% of cases, but in most individuals PU was combined with changes in urine sediment. Thus, PU was accompanied by hematuria, represented by isomorphic erythrocytes, and leukocyturia in 8 (25.8±7.9)% of patients, hematuria - in 2 (6.5±4.4)% and leukocyturia - in 4 (12.9±6.0)% of patients.

In tubulointerstitial diseases compared with glomerular renal pathology, renal dysfunction was significantly less frequently recorded (32.3±8.4% versus 76.5±10.3%, $p < 0.01$); also AH (9.7±5.3% and 70.6±11.0% respectively, $p < 0.001$).

Glomerular kidney damage was characterized by a significantly lower glomerular filtration rate - 48.7 [30.2; 78.9] versus 84.5 [52.6; 107.2] ml/min/1.73m² ($p < 0.05$). Accordingly, only 1 person with glomerular lesion GFR exceeded 90 ml/min/1.73m², which was sharply inferior to the corresponding frequency of this symptom in tubulointerstitial pathology (48.4±9.0%, $p < 0.001$). The final stage of CKD occurred in three (17.6±9.2)% of patients, two of whom recommended renal replacement therapy with programmed hemodialysis.

At glomerular damage of kidneys noted also essentially higher level of PU (1.3 [1.4; 3.0] vs. 0.4 [0.3; 0.8] g/day, $p < 0.05$). In 8 patients it exceeded 3.0 g/day, and in two of them it reached 8.0 and 9.0 g/day. Significantly more often than in patients with tubulointerstitial diseases found a combination of PU with hematuria (64.7 ± 11.6% vs. 6.5 ± 4.4%, $p < 0.001$); with hematuria and aseptic leukocyturia (52.9 ± 12.1 vs. 25.8 ± 7.9%, respectively, $p < 0.05$). In most cases, microhematuria represented by dysmorphic erythrocytes was noted, while episodic macrohematuria was observed in two patients.

7 (41.2±11.9%) of patients were diagnosed with nephrotic and 5 (29.4±11.0%) with acute nephritic syndromes. It is noteworthy that these syndromes are not found in any member of the group with tubulointerstitial disease. As expected, the level of hemoglobin in glomerular kidney damage was significantly lower (99.1 [83.0; 123.6] versus 124.0 [112.5; 133.0] g/l, $p < 0.05$).

In patients with glomerular kidney disease, compared with tubulointerstitial diseases, significantly higher levels of HIV RNA were determined (Fig. 2).

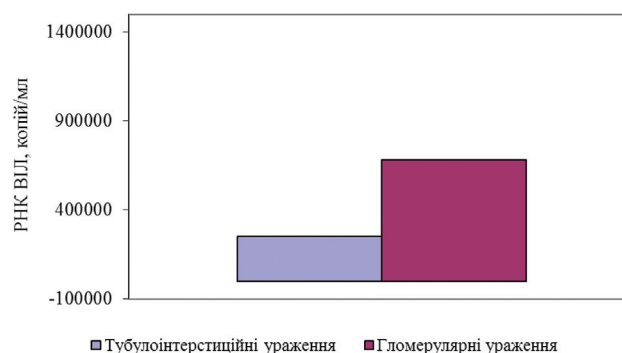


Fig. 2. HIV RNA levels in patients with different variants of kidney damage

This may indicate a direct effect of HIV on the glomerular apparatus, whereas tubulointerstitial kidney damage is most likely due to exposure to opportunistic infections and drugs with nephrotoxic potential, as well as the use of psychotropic drugs and uncontrolled use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

The average number of CD4+ lymphocytes in the serum of patients with proteinuria is significantly less than in HIV-infected individuals without markers of kidney damage (185.5 [25% - 60.9; 75% - 318.0] against 312.0 [25% - 175.5; 75% - 469.0] cells/μl, respectively, $p < 0.05$). Decreased levels of CD4+ lymphocytes ≤ 200 cells/μl were found in 52.1±7.2% of patients with proteinuria and in 30.0±7.2% in its absence ($p < 0.05$). Significantly significant is the difference between the values of the ratio of CD4+/CD8+ lymphocytes in the analyzed groups (0.2 [0.1; 0.4] and 0.4 [0.2; 0.6], respectively, $p < 0.05$).

There were no significant differences in other indicators that characterize the course of HIV infection in people with different clinical variants of chronic kidney disease.

From this we can also conclude that the clinical manifestations of kidney damage in the studied patients coincide with those characteristic of certain variants of pathology in the general population of nephrological patients.

Numerous studies have been conducted worldwide to study the spectrum of kidney disease in HIV-infected individuals [6, 8, 11]. Thus, in studies conducted in the United States, it was found that, according to kidney biopsy, 52.7% of patients with PU nephrotic level were diagnosed with HIV-associated nephropathy. They were all African Americans. The high prevalence of this pathology is associated with racial affiliation, as well as with a special variant of the antigen / receptor for Duffy-type chemokines, which is found in renal tissue [4, 5]. According to multicenter studies conducted in France and Italy, where the majority of patients were Caucasian, immunocomplex lesions predominated among morpho-

logically confirmed diagnoses in HIV-infected patients with renal pathology [6, 11].

It is known that one of the defining laboratory criteria for CKD is proteinuria. Therefore, the next stage of the work was to establish the clinical and laboratory features of renal dysfunction depending on the level of protein in the urine.

Depending on the level of proteinuria, patients were divided into two groups. The first group consisted of 27 of 48 (56.3%) people with PU less than 1.0 g/day, the second group – 21 (43.7%) patients with PU more than 1.0 g/day, in 7 of which it reached nephrotic level – more than 3.0 g/day.

Both groups were dominated by men ($70.4 \pm 8.4\%$ and $57.1 \pm 10.9\%$ respectively) and persons aged 25-44 years ($66.7 \pm 9.1\%$ and $61.9 \pm 10.6\%$ respectively), as in the general population of HIV-infected.

Patients with HIV infection with a PU level of more than 1 g/day were significantly more often diagnosed with hypertension than in patients in whom proteinuria did not exceed this level (52.4 ± 10.9 vs. $14.8 \pm 6.8\%$, $p < 0.01$). Thus, an association was established between PU levels and the presence of hypertension. It should be noted that the level of blood pressure patients in the groups were distributed as follows: Grade I hypertension was diagnosed in 3 (11.1%) persons of the first and 3 (14.3%) of the second group; Grade II hypertension was detected in 2 (7.4%) and 4 (19.0%) patients, respectively; Grade III hypertension occurred in only one (3.7%) of the first group and in 3 (14%) of patients with proteinuria > 1 g/day.

We found statistically significant intergroup differences in the severity of kidney damage depending on the level of proteinuria. Thus, preserved renal function ($GFR \geq 90$ ml/min/1.73m²) was more often recorded in patients of group 1 ($48.1 \pm 9.6\%$) and significantly less often in individuals with proteinuria > 1 g/day, $5 \pm 6.4\%$, $p < 0.01$. Conversely, GFR corresponding to stage 3 CKD was recorded in half ($47.6 \pm 10.9\%$) of patients with proteinuria > 1 g/day and only in $18.5 \pm 7.5\%$ of patients with PU (1 g/day (Fig. 3). Accordingly, end-stage renal disease ($GFR < 15$ ml/min/1.73m²) was detected only in

patients of the second group, in 2 of whom the level of proteinuria exceeded 3.0 g/day.

Established an inverse medium-strength correlation between proteinuria levels and glomerular filtration rate – ($r = -0.562$, $p < 0.01$) (Fig. 4).

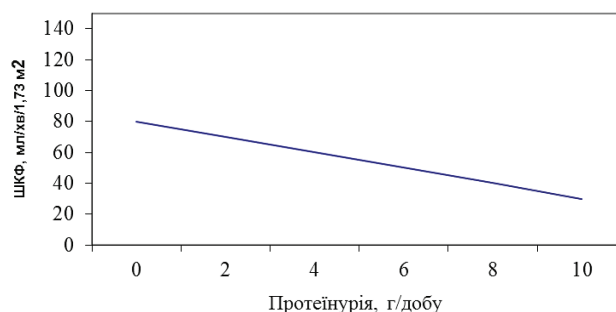


Fig. 4. Relationship between proteinuria levels and glomerular filtration rate

Thus, it was found that the increase in PU levels is accompanied by statistically significant renal impairment and more frequent combination with hypertension and hematuria in the absence of significant differences in the frequency of opportunistic diseases.

CONCLUSIONS

1. In HIV-infected kidney damage is most often characterized by their tubulointerstitial lesions. At the same time, glomerular kidney damage, which is much less common, is accompanied by significantly higher levels of HIV RNA.
2. An increase in the level of PU is accompanied by a significantly significant impairment of renal function and, more often, by a combination of arterial hypertension and hematuria in the absence of significant differences in the incidence of opportunistic diseases.

REFERENCES

1. Cohen S.D., Kopp J.B., Kimmel P.L. Kidney diseases associated with human immunodeficiency virus infection. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377(24): 2363-74. DOI: 10.1056/NEJMra1508467
View at: Publisher Site: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1508467>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29236630/>
2. Cristelli M.P., Cofán F., Rico N., Trullàs J.C., Manzardo C., Agüero F., Miro J.M. Estimation of renal function by CKD-EPI versus MDRD in a cohort of HIV-infected patients: a cross-sectional analysis. *BMC nephrology*. 2017; 18(1): 1-7. doi: 10.1186/s12882-017-0470-4.
View at: Publisher Site: <https://bmcnephrol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12882-017-0470-4>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28183270/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5301369/>
3. Eisinger R.W., Dieffenbach C.W., Fauci A.S. HIV viral

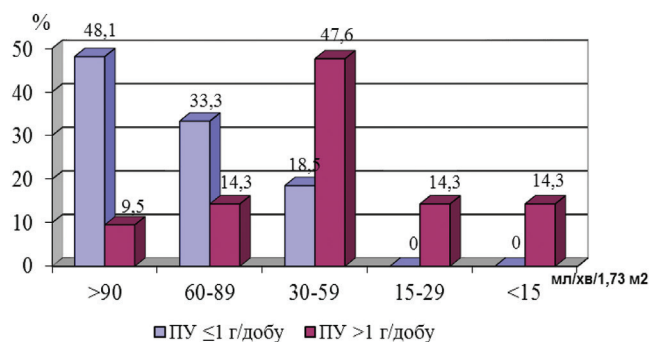


Fig. 3. Characteristics of the staged distribution of CKD in HIV-infected people with different levels of proteinuria

- load and transmissibility of HIV infection: undetectable equals untransmittable. *Jama*. 2019; 321(5): 451-2. doi: 10.1001/jama.2018.21167.
View at: Publisher Site: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2720997>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30629090/>
4. Ellis C.L. HIV associated kidney diseases: Clarifying concordance between renal failure in HIV infection and histopathologic manifestations at kidney biopsy. *Seminars in diagnostic pathology*. 2017; 34(4): 377-83. doi: 10.1053/j.semmp.2017.04.009
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740257017300540?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28578979/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/28578979>
 5. Frigati L., Mahtab S., Nourse P., Ray P., Perrazzo S., Machemedze T., Zar H. Prevalence of risk factors for chronic kidney disease in South African youth with perinatally acquired HIV. *Pediatric Nephrology*. 2019; 34(2): 313-8. doi: 10.1007/s00467-018-4080-6.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00467-018-4080-6>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30219929/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6529608/>
 6. Jotwani V., Atta M.G., Estrella M.M. Kidney disease in HIV: moving beyond HIV-associated nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2017; 28(11): 3142-54. doi: 10.1681/ASN.2017040468
View at: Publisher Site: <https://jasn.asnjournals.org/content/28/11/3142>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28784698/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5661296/>
 7. Pokrovskiy V.V., Urin O.G., Kravchenko A.V. [National guidelines for dispensary observation and treatment of patients with HIV infection. *Clinical Protocol*]. *Epidemiology and Infectious Diseases. The Actual Issues*. 2017; 6(attachment):5-80 [in Russian].
View at: Publisher Site: <https://epidemiology-journal.ru/ru/archive/edition/9844>
 8. Saag M.S., Benson C.A., Gandhi R.T., Hoy J.F., Landovitz R.J., Mugavero M.J., ... & Volberding P.A. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2018 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *Jama*. 2018; 320(4): 379-96. doi: 10.1001/jama.2018.8431
View at: Publisher Site: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/2688574>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30043070/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6415748/>
 9. Shylov E.M. [Nefrology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 696 p. [in Russian].
View at: URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970416419.html>
 10. Swanepoel C.R., Atta M.G., D'Agati V.D., Estrella M.M., Fogo A.B., Naicker S., Zeier M. Kidney disease in the setting of HIV infection: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney international*. 2018; 93(3): 545-59. doi: 10.1016/j.kint.2017.11.007
View at: Publisher Site: [https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(17\)30823-2/fulltext](https://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(17)30823-2/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29398134/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5983378/>
 11. Wyatt C.M. Kidney disease and HIV infection. *Topics in antiviral medicine*. 2017; 25(1): 13-6.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28402929/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5677039/>

Article history
Received: 01.02.2021
Revision requested: 10.02.2021
Revision received: 28.02.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕНЬ НИРОК У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ХВОРИХ

Москалюк В.Д., Андрущак М.О., Соколенко М.О., Балайук І.В., Бойко Ю.І.

Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна

margaritaassistant@gmail.com

Актуальність. У ВІЛ-інфікованих пацієнтів ураження нирок, яке характеризується тяжкими клінічними проявами, може істотно впливати на прогноз життя. Враховуючи зростання числа ВІЛ-інфікованих у світі та збільшення тривалості життя таких хворих, слід чекати й збільшення кількості ВІЛ-інфікованих осіб, які потребують дороговартісної замісної ниркової терапії, а також трансплантації нирки. Але питання характеру ураження нирок при ВІЛ-інфекції в Україні досі залишається недостатньо висвітленим.

Ціль: встановити клінічні та лабораторні особливості ураження нирок при ВІЛ-інфекції.

Матеріали і методи. Обстежено 292 хворих на ВІЛ-інфекцію. Здійснювали скринінг маркерів пошкодження нирок – альбурії/протеїнурії – тест-системами за допомогою сечових смужок. Результати, отримані за допомогою тест-смужок, розглядали як орієнтовні. За наявності у скринінговому тесті протеїнурії $\geq 1+$, що відповідала градації 30 мг/л, здійснювали повторні

аналізи сечі з кількісним визначенням білка на спектрофотометрі, розділені в часі від 3 діб до одного тижня. Функціональний стан нирок оцінювали за інтегральним показником, що характеризує ступінь збереження/втрати маси діючих нефронів. Критерієм порушення функції нирок було зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) < 60 мл/хв на $1,73$ м². Хронічну хворобу нирок діагностували при виявленні протеїнурії або протеїнурії у поєднанні зі зниженням ШКФ протягом 3 і більше місяців.

Результати. На підставі основних маркерів пошкодження нирок – персистентної протеїнурії (ПУ) і швидкості клубочкової фільтрації < 60 мл/хв/ $1,73$ м² – у 48 осіб діагностована хронічна хвороба нирок, яка з великою частотою супроводжувалася порушенням функції цих органів. На підставі аналізу скарг, анамнестичних відомостей та клінічних симптомів ураження нирок хворі були розділені на 2 групи. Перша група ($n=31$, або $64,6\%$) – пацієнти з тубулоінтерстиційними, друга група ($n=17$, або $35,4\%$) – пацієнти з гломерулярними захворюваннями. Підвищення рівня ПУ супроводжується достовірно значущим порушенням функції нирок і частішим поєднанням з артеріальною гіпертензією і гематурією за відсутності достовірних відмінностей у частоті опортуністичних захворювань. Встановили зворотну середньої сили кореляцію між рівнями протеїнурії і швидкістю клубочкової фільтрації – ($r=-0,562$, $p<0,01$), а також між рівнями протеїнурії та гемоглобіну ($r=-0,596$, $p<0,01$).

Висновки. У ВІЛ-інфікованих ураження нирок найчастіше характеризується їх тубулоінтерстиційним ураженням. Водночас гломерулярне ураження нирок, що буває значно рідше, супроводжується достовірно вищим рівнем РНК ВІЛ.

Ключові слова: ВІЛ-інфекція, хронічна хвороба нирок, тубулоінтерстиційне ураження, гломерулярне ураження нирок.

ОСОБЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Москалюк В.Д., Андрущак Н.А., Соколенко Н.А., Баланюк И.В., Бойко Ю.И.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

margaritaassistant@gmail.com

Актуальность. У ВИЧ-инфицированных пациентов поражение почек, которое характеризуется тяжелыми клиническими проявлениями, может существенно влиять на прогноз жизни. Учитывая рост числа ВИЧ-инфицированных в мире и увеличение продолжительности жизни таких больных, следует ожидать и увеличения количества ВИЧ-инфицированных лиц, нуждающихся в дорогостоящей заместительной почечной терапии, а также трансплантации почки. Но вопрос характера поражения почек при ВИЧ-инфекции в Украине до сих пор остается недостаточно освещенным.

Цель: установить клинические и лабораторные особенности поражения почек при ВИЧ-инфекции.

Материалы и методы. Обследовано 292 больных ВИЧ-инфекцией. Осуществляли скрининг маркеров повреждения почек – альбуминурии/протеинурии – тест-системами с помощью мочевых полосок. Результаты, полученные с помощью тест-полосок, рассматривали как ориентировочные. При наличии в скрининговом тесте протеинурии $\geq 1+$, которая соответствует градации 30 мг/л, осуществляли повторные анализы мочи с количественным определением белка на спектрофотометре, разделенные во времени от 3 дней до одной недели. Функциональное состояние почек оценивали по интегральному показателю, характеризующему степень сохранения/потери массы действующих нефронов. Критерием нарушения функции почек было снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) < 60 мл/мин на $1,73$ м². Хроническую болезнь почек диагностировали при выявлении протеинурии или протеинурии в сочетании со снижением СКФ в течение 3 и более месяцев.

Результаты. На основании основных маркеров повреждения почек – персистентной протеинурии (ПУ) и скорости клубочковой фильтрации < 60 мл/мин на $1,73$ м² – у 48 человек диагностирована хроническая болезнь почек, которая с большой частотой сопровождалась нарушением функции этих органов. На основании анализа жалоб, анамнестических сведений и клинических симптомов поражения почек больные были разделены на 2 группы. Первая группа ($n=31$, или $64,6\%$) – пациенты с тубулоинтерстициальными, вторая группа ($n=17$, или $35,4\%$) – пациенты с гломерулярными заболеваниями. Повышение уровня ПУ сопровождается достоверно значимым нарушением функции почек и более частым сочетанием с артериальной гипертензией и гематурией при отсутствии достоверных различий в частоте оппортунистических заболеваний. Установили обратную средней силы корреляцию между уровнями протеинурии и скоростью клубочковой фильтрации – ($r = -0,562$, $p < 0,01$), а также между уровнями протеинурии и гемоглобина ($r = -0,596$, $p < 0,01$).

Выводы. У ВИЧ-инфицированных больных поражения почек чаще всего характеризуется их тубулоинтерстициальным поражением. Гломерулярное поражение почек бывает значительно реже, сопровождается достоверно более высоким уровнем РНК ВИЧ.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, хроническая болезнь почек, тубулоинтерстициальное поражение, гломерулярное поражение почек.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МАСИ ПЛОДІВ ПРИ НАРОДЖЕННІ ПРИ РІЗНИХ ТИПАХ ДВІЄНЬ

Тепла І.В. <https://orcid.org/0000-0002-7982-9983>

Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Київ, Україна

iryna.tepla@ukr.net

Актуальність дослідження полягає в суттєвому збільшенні кількості багатоплідних вагітностей, більшим ризиком перинатальних ускладнень, наявністю протиріч стосовно впливу хоріальності та статі малюків на їх масу, необхідністю своєчасної діагностики затримки росту плода.

Мета: порівняння мас плодів при народженні в залежності від хоріальності, гестаційного віку та статі.

Матеріали та методи. Протягом 2016-2020 років обстежено 440 пар близнюків: 375 дихоріальних діамніотичних та 65 монохоріальних діамніотичних. Серед дихоріальних пар було 186 (49,6%) різностатевих, 98 (26,1%) одностатевих чоловічих та 91 (24,3%) одностатевих жіночих. Вимірювали масу плодів при народженні, оцінювали її зв'язок з хоріальністю, статтю плодів, якої статі другий плід в парі, гестаційним віком.

Результати. Середня маса 750 плодів з дихоріальних пар ($2570,0 \pm 506,43$ г) достовірно перевищувала масу 130 плодів з монохоріальних пар ($2333,4 \pm 567,24$ г, $p < 0,0001$). Маса дихоріальних двієнь чоловічої статі ($2603,8 \pm 532,29$ г) та різностатевих ($2595,6 \pm 490,17$ г) перевищувала масу всіх інших двієнь ($p < 0,05$). В групі дихоріальних двієнь маса хлопчиків перевищувала масу дівчат ($2638,1 \pm 525,96$ г проти $2499,4 \pm 475,84$ г, $p = 0,0002$), як в середині різностатевих пар ($2674,2 \pm 518,17$ г проти $2517,1 \pm 448,24$ г, $p = 0,0019$), так і одностатевих пар хлопчиків порівняно з одностатевими парами дівчат ($2603,8 \pm 532,29$ г та $2481,4 \pm 503,08$ г, відповідно, $p = 0,0224$). Не виявлено суттєвої різниці в масі дівчат з різностатевих двієнь порівняно з одностатевими парами. В монохоріальних парах маса плодів чоловічої та жіночої статі суттєво не відрізнялася. Дискордантність маси плодів зустрічалася при всіх типах двієнь, найбільший відсоток зареєстрований у монохоріальних хлопчиків – 23,7%, на другому місці були дихоріальні чоловічі пари – 20,4%. Серед 30 дискордантних дихоріальних різностатевих двієнь в 19 (63,3%) випадках важчим був хлопчик. Не виявлено суттєвої різниці в масі плодів при заплідненні жінок природнім шляхом та з використанням допоміжних репродуктивних технологій. Середня маса дітей, народжених сурогатними матерями, перевищувала масу дітей, народжених несурогатними матерями ($p = 0,0466$). Маса плодів була більшою, якщо у жінок були вагітність та пологи в анамнезі.

Висновки. Середня маса плодів дихоріальних двієнь перевищувала масу плодів монохоріальних пар. Превалювання маси хлопчиків над масою дівчат в дихоріальних парах та відсутність статевої різниці в монохоріальних двійнях вказує на можливість різної, зумовленої статтю, функціональної активності плацент. Малі для гестаційного віку плоди найчастіше зустрічались в групі монохоріальних двієнь жіночої статі та різностатевих дихоріальних парах. Дискордантність маси плодів найчастіше зустрічалася при монохоріальних двійнях чоловічої статі. В дискордантних різностатевих парах частіше важчим був плід чоловічої статі. Не виявлено суттєвої різниці в масі плодів при заплідненні жінок природнім шляхом та з використанням допоміжних репродуктивних технологій. Середня маса дітей, народжених сурогатними матерями, перевищувала масу дітей, народжених несурогатними матерями. При першій вагітності народжувались діти з меншою масою тіла, порівняно з дітьми, народженими в результаті повторних вагітностей та пологів.

Ключові слова: гестаційний вік, двійні, дискордантність маси плодів, затримка росту плода, малий для гестаційного віку плід

Актуальність. На масу плодів при народженні (МПП) впливають різноманітні фактори, такі як генетичні, соціоекономічні, наявність у матері захворювань, в першу чергу, цукрового діабету, артеріальної гіпертензії та інфекційної природи [1]. Цей показник розглядають в якості предиктора захворювань матері, виходу пологів, перинатальної морбідності та летальності і навіть перспектив майбутнього розвитку дитини [1-3].

Протягом останніх 40 років значно збільшилась кількість багатоплідних вагітностей (БВ), що пов'язують із більш широким застосуванням репродуктивних технологій, таких як: індукція овуляції, стимуляція суперовуляції у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) [4]. В Україні, за відсутності реєстру багатоплідних вагітностей і пологів, єдиним

показником, що піддається аналізу, є питома вага багатоплідних пологів, що протягом останніх років збільшилась на понад 40 % [5].

Багатоплідна вагітність, у порівнянні із вагітністю одним плодом, супроводжується підвищеним ризиком мертвонародження, ранньої неонатальної смертності, дитячої смертності, передчасних пологів, низької ваги при народженні, вроджених вад розвитку [6]. Епідеміологічні дослідження у людей демонструють, що чим менша маса тіла новонародженого, тим менша вірогідність того, що він виживе, вищим буде ризик виникнення дегенеративних захворювань дорослого віку, таких як гіпертензія, коронарна хвороба серця та цукровий діабет другого типу [1, 7]. Як вже повідомлялось, завдяки широкому використанню ДРТ із переносом двох ембріонів, значно збільшилась

кількість саме дихоріальних (ДХ) двієнь. З акушерської точки зору, останні мають кращий прогноз для виношування, розродження та для новонароджених двійнят, ніж монохоріальні (МХ) [8]. Перинатальні ускладнення та смертність при МХ близнюках в 3-5 разів частіші, порівняно з ДХ [9]. Частково це зумовлено більшим рівнем передчасних пологів, а також розвитком специфічних ускладнень, зокрема синдрому міжблизнюкового перетікання (СМП).

Постнатальна оцінка маси плодів важлива ще й тому, що за результатами останніх досліджень, близько 75% малих для гестаційного віку плодів (МГВП) залишаються не розпізнаними до моменту народження, зважування та порівняння зі стандартними шкалами [10-12]. Плід, який, за пренатальними картами оцінки маси плодів, вважається малим, може бути природньо малим і повністю відповідати генетично успадкованим особливостям розвитку. У нього немає ризиків виникнення захворювань, пов'язаних з затримкою роста плода (ЗРП) і відповідно, нема потреби в проведенні зайвих обстежень в цьому напрямку.

Мета: порівняння мас плодів при народженні в залежності від хоріальності, гестаційного віку та статі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилося в клініці кафедри акушерства-гінекології № 1 Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика на базі КНП КОР «Київський обласний перинатальний центр». Протягом 2016-2020 років обстежено 440 пар близнюків. Серед них було 375 дихоріальних діамніо-

тичних (ДХДА) пар та 65 монохоріальних діамніотичних (МХДА). Вісімдесят п'ять двієнь були народжені сурогатними матерями. Проведено порівняння стану та маси тіла при народженні малюків 186 (42,3 % від всіх спостережень) різностатевих пар двійнят, з 254 (57,7 %) одностатевими парами. Серед останніх було 136 (30,9 %) пар хлопчиків і 118 (26,8 %) пар дівчат. Серед 254 одностатевих двієнь МХДА було 65 (25,6 %), а ДХДА – 189 (74,4 %). В групі з 375 ДХДА двієнь різностатевих було 49,6 %, одностатевих чоловічої статі – 26,1 %, жіночої – 24,3 %.

Вік породіль коливався від 18 до 47 років. 79,1 % з них були у віці 21-35 років. Зріст, маса тіла та індекс маси тіла (ІМТ) породіль, що мали одностатеві та різностатеві двійні, не відрізнялися (табл. 1). Оскільки в більшості груп змінні розподілені не симетрично, дані наведені як Ме (Q1; Q3).

При проведенні множинного порівняння вказаних груп обидва критерія – Kruskal-Wallis та медіанний – продемонстрували відсутність різниці між групами (табл. 2).

Природним шляхом вагітність двійнею наступила у 266 (60,5 %) обстежених жінок. Допоміжні репродуктивні технології використанні при заплідненні 174 (39,5 %) пацієнток. Майже половина ДХ двієнь (45,6 %) була розроджена в термін 37-38 тижнів (рис. 1). На 37 тиждень припадає і найбільше число пологів (11) МХ двієнь, що склало 16,9 %. Загалом в терміні (≥ 37 тижнів) народжено 55,2% пар (243 пари). Як одностатеві, так і різностатеві двійні найчастіше народжувалися в період між 36 та 38 тиж-

Таблиця 1

Зріст, маса тіла та ІМТ жінок в залежності від типу двієнь

Типи двієнь		Кількість n	Зріст (м)			Маса тіла (кг)			ІМТ (кг/м ²)		
			Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3	Me	Q1	Q3
МХДА	Хлопчики	38	1,65	1,61	1,70	79,5	70,5	91,0	28,4	26,0	32,4
	Дівчата	27	1,66	1,62	1,70	73,5	66,0	83,0	26,4	24,5	30,1
ДХДА	Різностатеві	186	1,65	1,62	1,68	78,0	71,4	87,0	28,8	26,0	32,0
	Хлопчики	98	1,65	1,62	1,70	79,0	70,0	89,0	28,8	26,0	31,6
	Дівчата	91	1,67	1,64	1,69	77,0	71,0	85,0	27,8	25,5	31,3
Всього		440	1,65	1,62	1,70	78,0	70,3	87,0	28,7	25,7	31,6

Таблиця 2

Порівняння антропометричних показників породіль в залежності від типу двієнь

Статистичні тести порівняння декількох незалежних груп	Антропометричні показники		
	Зріст p	Маса тіла p	ІМТ p
Критерій Kruskal-Wallis	0,3780	0,4729	0,3227
Медіанний критерій	0,1492	0,4267	0,8276

нями (рис. 2). В анамнезі у 133 жінок вагітностей не було, у 307 було від однієї до 8 вагітностей. У 307 обстежених жінок (69,8 % від загальної кількості) вагітність двійнею була не першою вагітністю. За відсотком пацієнток з певною кількістю вагітностей в анамнезі ДХ різностатеві, ДХ одностатеві та МХ групи структурно не відрізнялися (Критерій Kruskal-Wallis $p = 0,9198$, медіанний критерій $p = 0,8621$). Серед жінок з двійнею у 173 (39,3 % від загальної кількості) в анамнезі не було пологів. У 147 (33,4 %) пацієнток в анамнезі були одні пологи, у 81 (18,4 %) жінки – двоє пологів, у 31 (7,0 %) – троє пологів і у 8 (1,8 %) – четверо пологів.



Рис. 1. Термін розродження в залежності від хоріальності

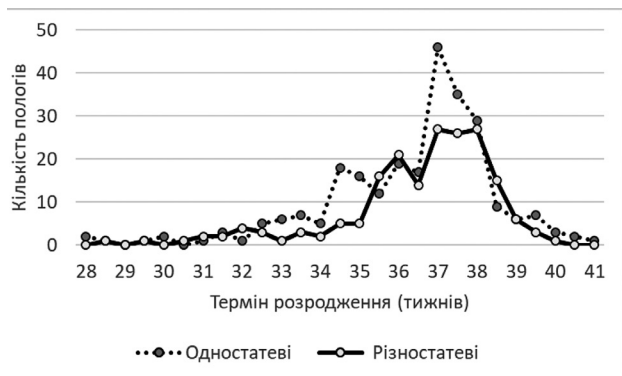


Рис. 2. Розподіл за терміном пологів одностатевих та різностатевих двійнь

Через природні пологові шляхи розродження проведено в 177 (40,2 %) обстежених випадках, шляхом кесарева розтину – в 254 (57,7 %), комбіновані пологи застосовані у 9 (2,0%) жінок.

Масу тіла при народженні малюків класифікували відповідно до міжнародних стандартів оцінки зростання плода [13]. Виконавці міжнародного проекту INTERGROWTH-21st вважають, що в усіх країнах доцільно використовувати розроблені ними стандарти, які повністю відповідають стандартам ВООЗ, оскільки застосування локальних карт, особливо в країнах з недостатньо розвиненою медичною системою, може заважати наданню оптимальної медичної допомоги [14].

Дискордантність маси тіл плодів (ДМТП) при народженні розраховували за формулою [15]:

Ступінь різниці мас тіл близнюків оцінювали наступним чином:

$$\text{ДМТП} = \frac{\text{маса тіла більшого близнюка} - \text{маса тіла меншого близнюка}}{\text{маса тіла більшого близнюка}} \times 100$$

- 1) – 10% різниця в масі тіла – плоди конкордантні;
- 2) – 10-20% – фізіологічна невідповідність;
- 3) – більше 20% – патологічна невідповідність.

Статистичну обробку даних проводили використовуючи програму Statistica 8.0 (Statsoft Inc., США) та статистичний апарат Microsoft Office Excel 2010. Для вибірок з нормальним розподілом результати наводили як середнє $\pm$ стандартне відхилення ($M \pm \sigma$). Достовірність різниці двох незалежних вибірок з нормальним розподілом і однаковою дисперсією оцінювали шляхом двобічного двовибіркового t-критерію Student (t). Для несиметричних варіаційних рядів визначали медіану (Me), нижній (Q1) і верхній (Q3) квартилі (25-й та 75-й процентилі) і дані наводили як Me (Q1; Q3). Порівняння трьох та більше незалежних груп, які не відповідають нормальному розподіленню, проводили за допомогою непараметричних методів: рангового дисперсійного аналізу за Kruskal-Wallis та медіанного критерію. Статистичні гіпотези вважали достовірними при критичному рівні значущості $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середня маса 750 плодів з 375 ДХДА пар ($2570,0 \pm 506,43$) г достовірно перевищувала масу 130 плодів з 65 МХДА пар ($2333,4 \pm 567,24$) г, $p < 0,0001$. Представлене в таблиці 3 порівняння середньої маси при народженні плодів, в залежності від типу двійні, демонструє, що різностатеві ДХДА двійні займають друге місце після одностатевих ДХДА двійнь чоловічої статі, проте різниця між ними статистично не достовірна. Вказані два типи двійнь переважають за масою всі інші варіанти близнюків.

Середня маса плодів чоловічої статі з усіх варіантів ДХДА двійнь статистично достовірно перевищувала масу тіла хлопчиків з МХДА пар ($2638,1 \pm 525,96$ г та $2346,2 \pm 630,02$ г, відповідно, $p < 0,0001$). Аналогічною була ситуація стосовно близнюків жіночої статі ($2499,4 \pm 475,84$ г та $2315,4 \pm 469,98$ г, відповідно, $p = 0,0081$).

Загалом в групі ДХДА двійнь маса хлопчиків достовірно перевищувала масу дівчат ($2638,1 \pm 525,96$ г проти $2499,4 \pm 475,84$ г, $p = 0,0002$). Причому така закономірність спостерігалася як в середині різностатевих пар ($2674,2 \pm 518,17$ г проти $2517,1 \pm 448,24$ г, $p = 0,0019$), так і одностатевих пар хлопчиків, порівняно з одностатевими парами дівчат ($2603,8 \pm 532,29$ г та $2481,4 \pm 503,08$ г, відповідно, $p = 0,0224$). В МХДА парах маса плодів чоловічої та жіночої статі суттєво

Таблиця 3

Середня маса плодів в залежності від типу двійні

N	Тип двійні	Середня маса плодів (г) $M \pm \sigma$	P
1	ДХДА чоловічої статі	2603,8 $\pm$ 532,29	$p_{1-2} = 0,8554$ $p_{1-3} = 0,0224^*$ $p_{1-4} = 0,0008^*$ $p_{1-5} = 0,0004^*$ $p_{2-3} = 0,0109^*$ $p_{2-4} = 0,0001^*$ $p_{2-5} = 0,0001^*$ $p_{3-4} = 0,0697$ $p_{3-5} = 0,0317^*$ $p_{4-5} = 0,7614$
2	ДХДА різностатеві	2595,6 $\pm$ 490,17	
3	ДХДА жіночої статі	2481,4 $\pm$ 503,08	
4	МХДА чоловічої статі	2346,2 $\pm$ 630,02	
5	МХДА жіночої статі	2315,4 $\pm$ 469,98	

* – статистично достовірна різниця

не відрізнялася (2346,2 $\pm$ 630,02 г проти 2315,4 $\pm$ 469,98 г, $p = 0,7614$). Маса дівчат з різностатевих ДХДА двінь (2517,1 $\pm$ 448,24 г) статистично незначуще перевищувала масу тіла дівчат з одностатевих ДХДА пар (2481,4 $\pm$ 503,08 г, $p = 0,4726$).

Порівняння маси тіла на момент народження, в залежності від використання або ні ДРТ, продемонструвало відсутність достовірної різниці практично в усіх групах, окрім МХДА хлопчиків. В невеликій групі МХ чоловічих двінь після ДРТ маса тіла (3352,5 $\pm$ 413,71 г) перевищувала масу тіла дітей, зачатих природнім шляхом (2290,3 $\pm$ 593,16 г, $p = 0,0007$).

Серед обстеженої групи було 85 сурогатних матерів. Звертає на себе увагу факт, що середня маса тіла народжених ними дітей (2607,4 $\pm$ 475,61 г) перевищує середню масу дітей, народжених несурогатними матерями (2518,7 $\pm$ 531,68 г, $p = 0,0466$).

Середня маса плодів при першій вагітності була меншою (2422,6 $\pm$ 507,32 г) порівняно з двійнями, народженими в результаті повторних вагітностей (2584,9 $\pm$ 521,39 г, $p < 0,0001$). Аналогічним чином

при наявності пологів в анамнезі маса плодів (2607,3 $\pm$ 504,50 г) перевищувала масу плодів при перших пологах (2421,9 $\pm$ 527,89 г, $p < 0,0001$).

Порівняння мас тіла плодів при народженні показало, що повна конкордантність частіше спостерігалася при ДХДА двійнях (хлопчики 53,1 %, різностатеві 48,4 %, дівчата 42,9 %). Найбільший відсоток вираженої ДМТП зареєстрований в групі МХДА хлопчиків – 23,7 % (табл. 4), через невеликий відсоток фізіологічної невідповідності друге місце займали ДХДА одностатеві пари чоловічої статі (20,4 %, $p > 0,1$). Дещо несподіваним було те, що найменшим він був в групі МХДА одностатевих двінь жіночої статі (14,8 %). Проте в останній групі найчастіше (44,4 %) фіксували фізіологічну невідповідність мас тіла близнюків в межах однієї пари. Серед 30 дискордантних ДХДА різностатевих двінь в 19 (63,3 %) випадках важчим був плід чоловічої статі, в 11 (36,7 %) – жіночої. Різниця у відсотках між всіма групами не є статистично достовірною. Серед важчих плодів перший хлопчик був в 12 випадках, другий плід хлопчик – в 7, перший плід дівчинка – в 6 та другий плід дівчинка – в 5.

Малими для гестаційного віку плодами вважаються такі, які не досягають специфічного біометричного або вагового порогу для відповідного гестаційного віку. Десята вагова перцентиль найбільш часто використовується для визначення МГВП [10]. Порівняння мас тіла малюків з міжнародними стандартами [13] продемонструвало, що не зважаючи на те, що МГВП найчастіше зустрічалися при МХДА двійнях жіночої статі, ця проблема характерна для всіх варіантів двінь (табл. 5).

Причому на другому місці знаходяться ДХДА різностатеві двійні.

Значно рідше народжувалися великі для гестаційного віку плоди (ВГВП), маса яких перевищувала 90 перцентилів.

Існує точка зору, що недоцільно оцінювати ризики, пов'язані з двійнею, базуючись на стандартах, розроблених для одноплідних вагітностей [16]. В декількох країнах, таких як Аргентина, Австралія, Ка-

Таблиця 4

Співвідношення мас плодів в парах двінь в залежності від хоріальності та статі

Ступінь різниці мас тіл близнюків	МХДА дівчата		МХДА хлопчики		ДХДА різностатеві		ДХДА дівчата		ДХДА хлопчики		Всього	
%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<10	11	40,7	15	39,5	90	48,4	39	42,9	52	53,1	207	47,0
10-20	12	44,4	14	36,8	66	35,5	35	38,5	26	26,5	153	34,8
>20	4	14,8	9	23,7	30	16,1	17	18,7	20	20,4	80	18,2
Всього	27	100	38	100	186	100	91	100	98	100	440	100

Таблиця 5

Відхилення маси тіла плодів різних типів двієнь від міжнародних стандартів зростання плодів відповідно до гестаційного віку

Кількість плодів В групі		МХДА дівчата	МХДА хлопці	ДХДА різностатеві	ДХДА дівчата	ДХДА Хлопці
		1	2	3	4	5
		54	76	186	182	196
Маса < 10 вагової перцентилі	n	23	23	67	46	31
	%	42,6	30,3	36,0	25,3	15,8
p		$p_{1-2} > 0,1; p_{1-3} > 0,1; p_{1-4} < 0,02^*; p_{1-5} < 0,001^*; p_{2-3} > 0,1;$ $p_{2-4} > 0,1; p_{2-5} < 0,05^*; p_{3-4} < 0,05^*; p_{3-5} < 0,001^*; p_{4-5} < 0,05^*$				
Маса > 90 вагової перцентилі	n	0	1	4	1	6
	%	0	1,3	2,2	0,5	3,1
p		$p_{1-2} > 0,1; p_{1-3} < 0,05^*; p_{1-4} > 0,1; p_{1-5} < 0,05^*; p_{2-3} > 0,1;$ $p_{2-4} > 0,1; p_{2-5} > 0,1; p_{3-4} > 0,05; p_{3-5} > 0,1; p_{4-5} > 0,05$				

* – статистично достовірна різниця

Таблиця 6

Відхилення маси тіла плодів різних типів двієнь від стандартів маси на момент народження двієнь відповідно до гестаційного віку та статі

Кількість плодів В групі		МХДА дівчата	МХДА хлопці	ДХДА різностатеві	ДХДА дівчата	ДХДА Хлопці
		1	2	3	4	5
		54	76	186	182	196
Маса < 10 вагової перцентилі	n	17	17	42	24	28
	%	31,5	22,4	22,7	13,2	14,3
p		$p_{1-2} > 0,1; p_{1-3} > 0,1; p_{1-4} < 0,01^*; p_{1-5} < 0,02^*; p_{2-3} > 0,1;$ $p_{2-4} > 0,05; p_{2-5} > 0,1; p_{3-4} < 0,02^*; p_{3-5} < 0,05^*; p_{4-5} > 0,1$				
Маса > 90 вагової перцентилі	n	0	1	22	11	8
	%	0	1,3	11,8	6,0	4,1
p		$p_{1-2} > 0,1; p_{1-3} < 0,001^*; p_{1-4} < 0,001^*; p_{1-5} < 0,01^*; p_{2-3} < 0,001^*;$ $p_{2-4} < 0,05^*; p_{2-5} > 0,1; p_{3-4} < 0,05^*; p_{3-5} < 0,01^*; p_{4-5} > 0,1$				

* – статистично достовірна різниця

нада, Японія, Норвегія, Китай та Тайвань, розроблені та опубліковані стандарти маси тіла при народженні для близнюків [16-20]. На жаль, в Україні таких карт немає. Тому ми провели порівняння (табл. 6) з перцентиліями маси тіла близнюків відповідно до гестаційного віку, розробленими в Австралії [21].

Порівняння стандартів, розроблених міжнародними експертами для одноплідних вагітностей, та австралійських стандартів для близнюків продемонструвало меншу середню масу тіла при багатоплідній вагітності, відповідно меншими є 10 та 90 перцентилі. Тому при оцінці маси тіла двієнь за стандартами для близнюків меншим були відсотки МГВП в усіх обстежених групах. Проте статистичної достовірності

різниці досягла тільки в групах ДХДА різностатевих та одностатевих пар жіночої статі ($p < 0,01$). В той же час суттєво збільшилася кількість ВГВП, особливо серед різностатевих ДХДА ($p < 0,001$) та одностатевих ДХДА жіночої статі ($p < 0,01$).

Маса тіла на момент пологів ДХДА різностатевих двієнь зростає при збільшенні гестаційного віку (рис. 3).

Крива демонструє найбільший приріст мас плодів в інтервалах 33-34 тижнів та між 36 та 38 тижнями.

Причому динаміка зростання маси тіла була практично однакова як у дівчат з різностатевих ДХДА пар (рис. 4), так і у хлопців (рис. 5). Оскільки в наступних групах розподіл відрізнявся від нормального, застосований критерій Kruskal-Wallis.

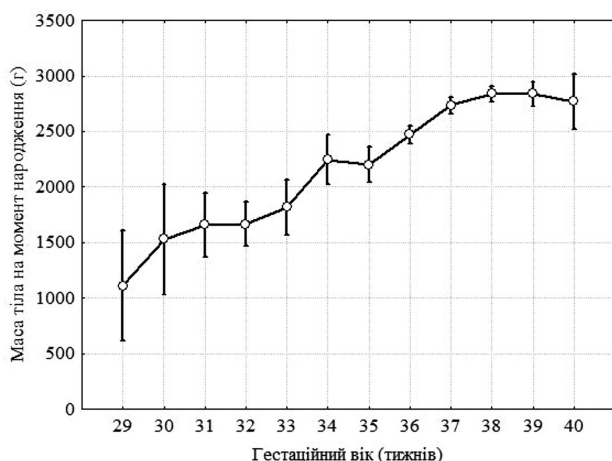


Рис. 3. Маса тіла плодів ДХДА різностатевих двісень в залежності від гестаційного віку. Вертикальні лінії позначають 0,95 довірчий інтервал.
Поточний ефект: $F(11, 360) = 30,786, p < 0,0001$.

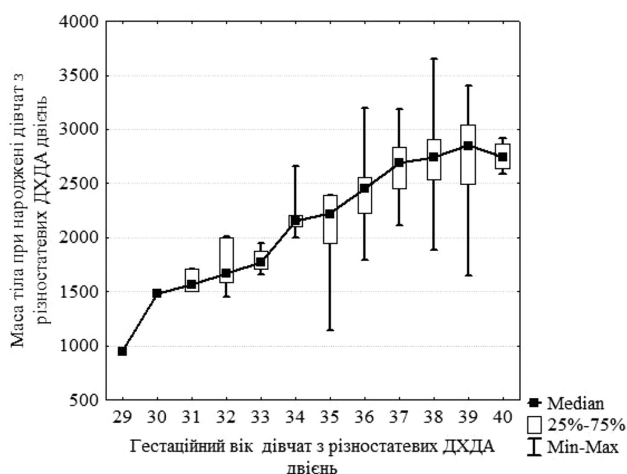


Рис. 4. Динаміка маси тіла при народженні дівчат з ДХДА різностатевих пар
Kruskal-Wallis test: $H(11, N = 186) = 77,85493, p < 0,0001$

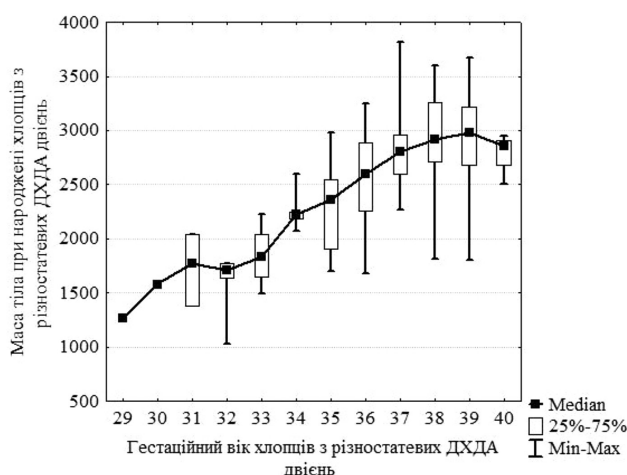


Рис. 5. Динаміка маси тіла при народженні хлопців з ДХДА різностатевих пар
Kruskal-Wallis test: $H(11, N = 186) = 72,05545, p < 0,0001$

Аналогічним чином достовірно збільшується і маса тіла плодів жіночої статі в одностатевих ДХДА двійнях (рис. 6). Критерій Kruskal-Wallis: $H(11, N = 182) = 65,54827, p < 0,0001$.

У одностатевих ДХДА пар чоловічої статі теж мало місце поступове достовірне збільшення маси тіла при народженні зі зростанням гестаційного віку (рис. 7). На що вказує критерій Kruskal-Wallis, який становить $H(10, N = 196) = 87,82587, p < 0,0001$.

Значне зростання маси тіла при народженні мало місце при збільшенні гестаційного віку МХДА пар чоловічої статі (рис. 8). Тест Kruskal-Wallis test: $H(10, N = 76) = 50,56835, p < 0,0001$.

В одностатевих дівочих парах прибавка маси тіла була не такою значною, проте достовірною (рис. 9). Тест Kruskal-Wallis: $H(7, N = 54) = 15,25761, p = 0,0328$, давав позитивний результат,

Не виявлено різниці в середньому гестаційному віці між різними варіантами ДХДА двісень ($p > 0,1$).

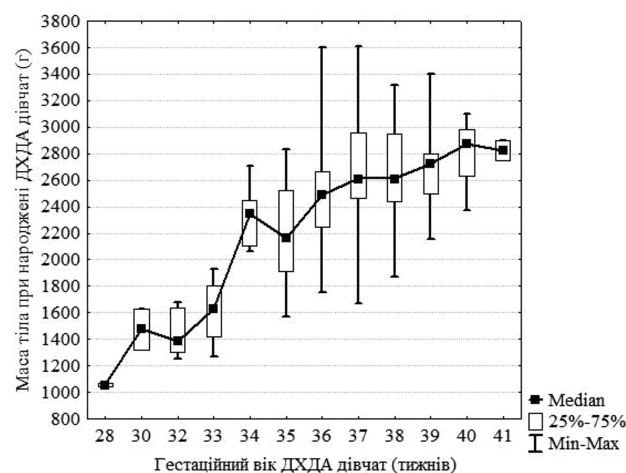


Рис. 6. Залежність маси тіла при народженні одностатевих ДХДА двісень жіночої статі від гестаційного віку

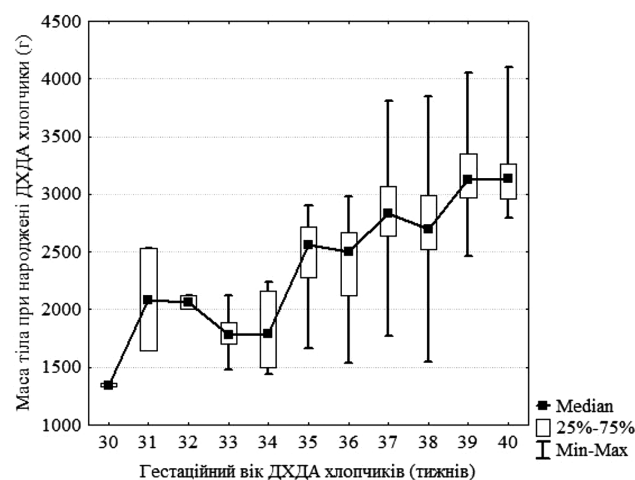


Рис. 7. Залежність маси тіла при народженні одностатевих ДХДА двісень чоловічої статі від гестаційного віку

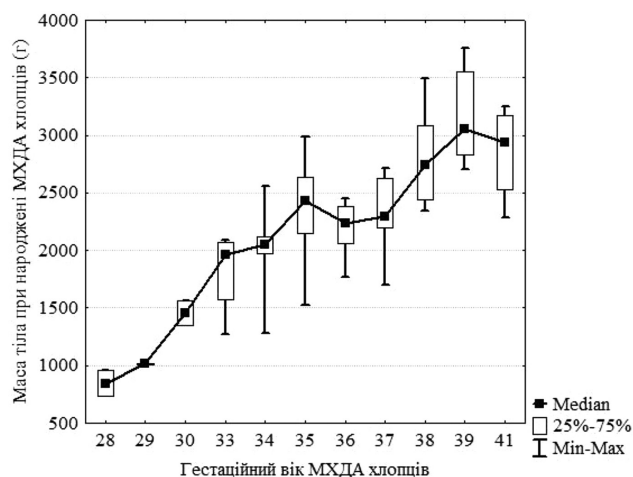


Рис. 8. Динаміка маси тіла МХДА двієнь чоловічої статі при збільшенні гестаційного віку

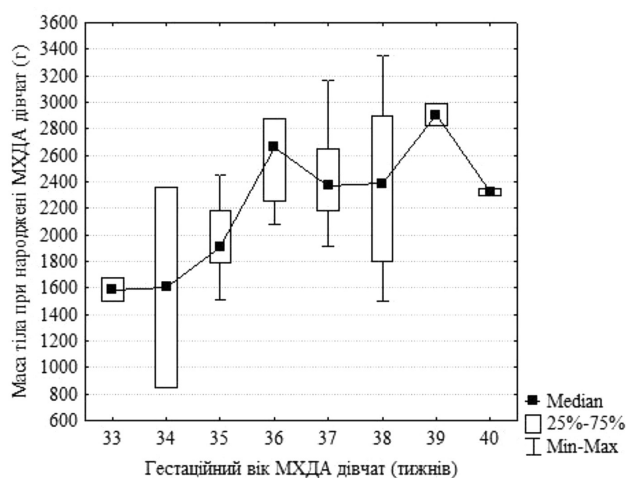


Рис. 9. Динаміка маси тіла МХДА двієнь жіночої статі при збільшенні гестаційного віку

Маса плода є не тільки індикатором його стану, повноти дозрівання, вірогідності виникнення перинатальних ускладнень, а і потенціалу майбутнього розвитку дитини. Є цікаві довготривалі дослідження, які демонструють зворотній зв'язок між цим показником та кардіоваскулярними захворюваннями, та навіть ризиком смерті від раку [2, 22]. Останній пов'язують з порушенням гормонального балансу в матці під час різноплідної вагітності.

Співвідношення кількості різних двієнь в нашому дослідженні було подібним до мета-аналізу трьох великих досліджень, проведеного А.А. Freedman et al. [23]: різностатевих – 46,6 %, одностатевих чоловічої статі – 26,0 %, жіночої статі – 27,4 %.

Більшу масу плодів в ДХДА парах легко пояснити кращими умовами їх кровопостачання при наявності двох плацент, порівняно з однією при МХДА двійнях, причому це стосується як плодів чоловічої, так і жіночої статі. Унікальними особливостями ДХ близнюків є їх спільні генетика, гестаційний вік, внутрішньоутробне середовище та характеристики батьків. Дихо-

ріальні близнюки, безумовно, конкурують за місце, і це буде впливати на їх масу. Проте важливим буде вплив взаємовідношення плодів зі своїми плацентами, який залишається подібним до взаємовідношень при одноплідній вагітності [23, 24]. В ДХДА парах більшу масу мали хлопчики, що дозволяє думати про те, що цей показник зчеплений зі статтю і, можливо, морфологічними та функціональними відмінностями плацент плодів різної статі. Це припущення підкріплює і факт відсутності статевої різниці мас плодів в МХДА двійнях, які живляться з однієї плаценти. В літературі дані стосовно статевих особливостей плацент неоднозначні [1, 25]. Доцільним вважається перевірка гіпотези стосовно різної метаболічної придатності плацент у ДХДА близнюків різної статі. Для цього потрібно провести вивчення морфометричних показників плацент ДХДА двієнь, а також оцінити їх функціональну ефективність.

В доступній літературі є згадування стосовно того, що при одноплідних вагітностях маса хлопчиків трохи перевищувала масу дівчат [1, 2, 26]. В нещодавньому дослідженні [27] теж виявлена різниця в масах тіла ДХДА близнюків чоловічої та жіночої статі, проте в їх дослідженні серед важчих плодів у двійнях більшу масу мали дівчата, а серед менших – хлопчики. Аналіз карт стандартів маси тіла близнюків при народженні, розроблених в Австралії, Тайвані, Китаї та Норвегії теж показує дещо більшу масу дітей чоловічої статі [18-21, 28]. Проте в цих публікаціях немає деталізації стосовно типів двієнь. Більш швидкий розвиток чоловічого плода, збільшення його маси та зменшення тривалості гестації пов'язують з анаболічним ефектом андрогенів [22].

Дебатується питання стосовно можливого впливу на масу тіла близнюка не тільки його статі, а і статі іншого плода [2]. Одні дослідники отримали данні, що хлопчики з різностатевих пар важчі за хлопчиків з одностатевих двієнь [29]. Інші такі данні не підтвердили [22]. За літературними даними, середній гестаційний вік одностатевих ДХ двієнь чоловічої статі менше, ніж в різностатевих та одностатевих парах жіночої статі [2]. Більшим гестаційним віком автори пояснювали більшу масу чоловічих плодів в різностатевих двійнях порівняно з одностатевими чоловічими. На відміну від цих досліджень, в обстеженій групі така відмінність не виявлена. Більш того, маса одностатевих хлопчачих двієнь перевищувала масу різностатевих, проте статистично не достовірно.

Більша маса близнюків чоловічої статі в ДХДА двійнях йде в розріз з теорією «Жіночої еко-стабільності», яка стверджує, що жіночі особи менш чутливі до зовнішніх факторів, які впливають на онтогенетичний розвиток, а чоловічі більш чутливі до них [30].

Є деякі дослідження, які демонструють більшу масу плодів жіночої статі з різностатевих двієнь по-

рівняно з дівчатами з одностатевих пар. Запропонована гіпотеза тестостеронової передачі у близнюків – дівчата з різностатевих пар знаходяться під впливом високого рівня пренатального тестостерону, що сприяє їх більшому зростанню [2]. Нами така закономірність не підтверджена. Відмінність в масах була статистично не достовірною ($p = 0,4726$). Є роботи, в яких маса дівчат з одностатевих пар навіть перевищує масу в різностатевих [2]. Більша маса плодів, народжених сурогатними матерями, може бути пояснена тим, що на цю роль відбирають здорових жінок, які вже мають дітей.

Виражену дискордантність маси тіла плодів вважають типовою саме для МХ двієнь і пояснюють виникненням СМП [9]. І в нашому дослідженні виражена ($> 20\%$) ДМТП частіше зустрічалася серед МХДА двієнь (20,0%), ніж ДХДА (17,9%). Проте, на відміну від інших досліджень, різниця не є статистично достовірною. В публікації Zhao et al., (2016) [24]. ДМТП виявлений у 23% МХДА двієнь та 10% ДХДА пар. Дивно низька дискордантність МХДА двієнь жіночої статі в обстеженій групі може бути пояснена затримкою розвитку малюків, оскільки саме у них був найвищим відсоток МГВП та достовірно найменшою середня маса плодів. Звертає на себе увагу те, що різностатеві ДХДА пари хоч і мають середню масу тіла малюків при народженні більшу за інші варіанти двієнь (за виключенням одностатевих ДХДА двієнь чоловічої статі), проте у них досить часто зустрічаються висока дискордантність плодів та розвиток МГВП.

Завжди треба пам'ятати, що на сьогоднішній день не існує єдиного порогового значення маси плодів, вище якого всі діти будуть розвиватися нормально, а ті, що мають меншу масу, не зможуть досягти свого індивідуального потенціалу зростання. Чим менший перцентиль буде вибраний в якості порогового значення, тим більше буде МГВП, тобто у більшій когорти малюків виникне підозра на ЗРП [12]. По деяким оцінкам, серед МГВП 60 % становлять діти з ЗРП, а 40% є конституційно маленькими [31]. Тому актуальним залишається завдання розробки простих, доступних та ефективних методів ранньої діагностики ЗРП задля виявлення плодів з високим ризиком безпосередніх та віддалених негативних наслідків в разі, коли вони будуть народжені не своєчасно.

ВИСНОВКИ

Середня маса плодів з ДХДА двієнь переважала масу плодів з МХДА пар, що може бути результатом кращої функціональної здатності двох плацент в першій групі, порівняно з однією плацентою в другій.

Превалювання маси хлопчиків над масою дівчат в ДХ парах та відсутність статевої різниці в масі при народженні в МХ двійнях вказує на можливість

різної функціональної активності плацент у плодів різної статі.

Малі для гестаційного віку плоди найчастіше (за міжнародними стандартами – 42,6 %, за Австралійськими стандартами для двієнь – 31,5 %) зустрічалися в групі МХДА двієнь жіночої статі, від них статистично не відрізнявся відсоток плодів з масою нижче 10 перцентилів в різностатевих ДХДА парах (36 % та 22,7 %, відповідно). Це вказує на те, що ЗРП може зустрічатися при всіх видах двієнь.

Для більш точного виявлення плодів з затримкою розвитку доцільно розробити Українські карти маси тіла новонароджених двієнь з урахуванням статі.

Повна конкордантність плодів в парі частіше мала місце серед ДХДА двієнь (від 53,1 % до 42,9 % в залежності від комбінації статі малюків). Виражена дискордантність найчастішою була у МХДА одностатевих двієнь чоловічої статі (23,7 %), на другому за частотою місці (20,4 %) були ДХДА двійні чоловічої статі, що вказує на актуальність цієї проблеми при всіх видах двієнь незалежно від хоріальності. В дискордантних різностатевих парах важчим частіше (63,3 %) був плід чоловічої статі.

Не виявлено суттєвої різниці в масі плодів при заплідненні жінок природнім шляхом та з використанням допоміжних репродуктивних технологій. Середня маса дітей, народжених сурогатними матерями, перевищувала масу дітей, народжених несурогатними матерями. При першій вагітності народжувались діти з меншою масою тіла, порівняно з дітьми, народженими в результаті повторних вагітностей та у жінок, які мали пологи в анамнезі.

REFERENCES

- Grandi C, Veiga A, Mazzitelli N, Cavalli R de C, Cardoso V. Medidas de crescimento placentário em relação ao peso de nascimento em uma população Latino-Americana. Rev Bras Ginecol e Obstet. 2016 Aug 1;38(8):373-80. DOI:10.1055/s-0036-1586721
View at: Publisher Site: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0036-1586721>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27501191/>
- Jelenkovic A, Sund R, Yokoyama Y, Hur YM, Ullemar V, Almquist C, et al. Birth size and gestational age in opposite-sex twins as compared to same-sex twins: An individual-based pooled analysis of 21 cohorts. Sci Rep. 2018 Dec 1;8(1): 6300. DOI:10.1038/s41598-018-24634-2
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-24634-2>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29674730/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5908858/>
- Risnes KR, Romundstad PR, Nilsen TIL, Eskild A, Vatten LJ. Placental weight relative to birth weight and long-term cardiovascular mortality: Findings from a cohort of 31,307 men and women. Am J Epidemiol.

- 2009 Sep;170(5):622-31. DOI:10.1093/aje/kwp182
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/aje/article/170/5/622/103205>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19638481/>
4. Osianlis T, Rombauts L, Gabbe M, Motteram C, Volleghoven B. Incidence and zygosity of twin births following transfers using a single fresh or frozen embryo. *Hum Reprod.* 2014 ;29(7):1438-43. DOI:10.1093/humrep/deu064
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/humrep/article/29/7/1438/902705>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24760778/>
5. Vdovychenko Yu.P., & Tkachenko A.V. [Clinical and statistical features of multiple pregnancies at the present stage]. *Bulletin of Scientific Researchers.* 2005;2:10-13. [in Ukrainian].
6. EUROPEAN PERINATAL HEALTH REPORT. Core indicators of the health and care of pregnant women and babies in Europe in 2015. 2015;
View at: Publisher Site: https://www.europeristat.com/images/EPHR2015_Euro-Peristat.pdf
7. Hanson MA, Gluckman PD. Developmental origins of health and disease: New insights. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; 2008 Feb;102(2):90-3. DOI:10.1111/j.1742-7843.2007.00186.x
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1742-7843.2007.00186.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18226060/>
8. Al-Riyami N, Al-Rusheidi A, Al-Khabori M. Perinatal outcome of monochorionic in comparison to dichorionic twin pregnancies. *Oman Med J.* 2013 May;28(3):173-7. DOI:10.5001/omj.2013.49
View at: Publisher Site: <http://www.omjournal.org/articleDetails.aspx?coType=1&aId=374>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23772282/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3679607/>
9. Lewi L. Monochorionic diamniotic twin pregnancies pregnancy outcome, risk stratification and lessons learnt from placental examination. *Verh K Acad Geneesk Belg.* 2010;72(1-2):5-15.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20726437/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/20726437>
10. Beune IM, Pels A, Gordijn SJ, Ganzevoort W. Temporal variation in definition of fetal growth restriction in the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019 May; 53(5): 569-70. DOI:10.1002/uog.19189
View at: Publisher Site: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/uog.19189>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30079567/>
11. Monier I, Ancel PY, Ego A, Jarreau PH, Lebeaux C, Kaminski M, Goffinet F, Zeitlin J, EPIPAGE 2 Study Group. Fetal and neonatal outcomes of preterm infants born before 32 weeks of gestation according to antenatal vs postnatal assessments of restricted growth. *Am J Obstet Gynecol.* 2017 May 1;216(5):516.e1-516.e10. DOI:10.1016/j.ajog.2017.02.001
View at: Publisher Site: [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(17\)30178-3/fulltext](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(17)30178-3/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28188770/>
12. Salavati N, Smies M, Ganzevoort W, Charles AK, Erwich JJ, Plösch T, Gordijn SJ. The possible role of placental morphometry in the detection of fetal growth restriction. *Frontiers in Physiology.* 2019 Jan 8;9:1884. DOI:10.3389/fphys.2018.01884
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.01884/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30670983/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6331677/>
13. Stirnemann J, Villar J, Salomon LJ, Ohuma E, Ruyan P, Altman DG, et al. International estimated fetal weight standards of the INTERGROWTH-21st Project. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Apr 1;49(4):478-86. DOI:10.1002/uog.17347
View at: Publisher Site: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/uog.17347>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27804212/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5516164/>
14. Papageorgiou AT, Kennedy SH, Salomon LJ, Altman DG, Ohuma EO, Stones W, et al. The INTERGROWTH-21st fetal growth standards: toward the global integration of pregnancy and pediatric care. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2018 Feb;218(2S):S630-S640. doi:10.1016/j.ajog.2018.01.011
View at: Publisher Site: [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(18\)30012-7/fulltext](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(18)30012-7/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29422205/>
15. Breathnach FM, McAuliffe FM, Geary M, Daly S, Higgins JR, Dornan J, Morrison JJ, Burke G, Higgins S, Dicker P, Manning F, Mahony R, Malone FD, Perinatal Ireland Research Consortium. Definition of intertwin birth weight discordance. *Obstet Gynecol.* 2011 Jul;118(1):94-103. DOI:10.1097/AOG.0b013e31821fd208
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2011/07000/Definition_of_Intertwin_Birth_Weight_Discordance.14.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21691168/>
16. Hu IJ, Hsieh CJ, Jeng SF, Wu HC, Chen CY, Chou HC, Tsao PN, Lin SJ, Chen P-C, Hsieh W-S. Nationwide Twin Birth Weight Percentiles by Gestational Age in Taiwan. *Pediatr Neonatol.* 2015 Oct 1; 56(5):294-300. DOI:10.1016/j.pedneo.2014.12.004
View at: Publisher Site: [https://www.pediatr-neonatology.com/article/S1875-9572\(15\)00020-0/fulltext](https://www.pediatr-neonatology.com/article/S1875-9572(15)00020-0/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25797652/>
17. Arbuckle TE, Wilkins R, Sherman GJ. Birth weight percentiles by gestational age in Canada. *Obstet Gynecol.* 1993 Jan; 81(1): 39-48.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8416459/>

18. Dai L, Deng C, Li Y, Yi L, Li X, Mu Y, Li Q, Yao Q, Wang Y. Population-based birth weight reference percentiles for Chinese twins. *Ann Med*. 2017 Aug 18;49(6):470-8. DOI:10.1080/07853890.2017.1294258
View at: Publisher Site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07853890.2017.1294258>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28276868/>
19. Skjærven R, Gjessing HK, Bakketeig LS. Birth-weight by gestational age in Norway. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79(6):440-9. DOI:10.1034/j.1600-0412.2000.079006440.x
View at: Publisher Site: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1600-0412.2000.079006440.x>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/10857867>
20. Zhang B, Cao Z, Zhang Y, Yao C, Xiong C, Zhang Y, Wang Y, Zhou A. Birthweight percentiles for twin birth neonates by gestational age in China. *Sci Rep*. 2016 Aug 10; 6:31290. DOI:10.1038/srep31290
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/srep31290>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27506479/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4978964/>
21. Li Z, Umstad MP, Hilder L, Xu F, Sullivan EA. Australian national birthweight percentiles by sex and gestational age for twins, 2001-2010. *BMC Pediatr*. 2015 Oct 8;15(1): 148. DOI:10.1186/s12887-015-0464-y
View at: Publisher Site: <https://bmcpediatr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12887-015-0464-y>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26450410/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4599725/>
22. Luke B, Hediger M, Min SJ, Brown MB, Misiunas RB, Gonzalez-Quintero VH, et al. Gender mix in twins and fetal growth, length of gestation and adult cancer risk. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2005 Jan;19 Suppl 1:41-7. DOI:10.1111/j.1365-3016.2005.00616.x
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-3016.2005.00616.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15670121/>
23. Freedman AA, Hogue CJ, Marsit CJ, Rajakumar A, Smith AK, Grantz KL, Goldenberg RL, Dudley DJ, Saade GR, Silver RM, Gibbins KJ, Bukowski R, Drews-Botsch C. Associations between features of placental morphology and birth weight in dichorionic twins. *Am J Epidemiol*. 2019 Mar 1;188(3):518-26. DOI:10.1093/aje/kwy255
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/aje/article/188/3/518/5193217>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30452541/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6395169/>
24. Zhao D, Lipa M, Wielgos M, Cohen D, Middeldorp JM, Oepkes D, Lopriore E. Comparison between Monochorionic and Dichorionic Placentas with Special Attention to Vascular Anastomoses and Placental Share. *Twin Res Hum Genet*. 2016 Jun 1; 19(3):191-6. DOI:10.1017/thg.2016.19
View at: Publisher Site: <https://www.cambridge.org/core/journals/twin-research-and-human-genetics/article/comparison-between-monochorionic-and-dichorionic-placentas-with-special-attention-to-vascular-anastomoses-and-placental-share/36382444D741E8F7C-DAEE027B6831C59>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27068823/>
25. Waszak M, Cieřlik K., Kempiak J., Bręborowicz G., Gadzinowski J. Relationship between type and weight of placenta and neonate birth weight in twin pregnancy. *Anthropological Review*. 2013; 76(2), 173-82. DOI: 10.2478/anre-2013-0017
View at: Publisher Site: <https://sciencedirect.com/article/10.2478/anre-2013-0017>
26. Kiserud T, Piaggio G, Carroli G, Widmer M, Carvalho J, Neerup Jensen L, et al. The World Health Organization Fetal Growth Charts: A Multinational Longitudinal Study of Ultrasound Biometric Measurements and Estimated Fetal Weight. *PLoS Med*. 2017 Jan 24; 14(1):e1002220. DOI:10.1371/journal.pmed.1002220
View at: Publisher Site: <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1002220>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28118360/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5261648/>
27. Voicu N-L, Berceanu S, Paitici Ș, Roșu G-C, Iovan L, Berceanu C, BohîlTea RE, Istrate-OfiTeu A-M. Clinical and Morphological Study of Single and Twin Pregnancies Placenta. *Curr Heal Sci J*. 2020 Jan-Mar; 46(1):44-55. DOI:10.12865/CHSJ.46.01.07
View at: Publisher Site: <https://www.chsjournal.org/article/46/1/7/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32637165/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7323729/>
28. Sankilampi U, Hannila ML, Saari A, Gissler M, Dunkel L. New population-based references for birth weight, length, and head circumference in singletons and twins from 23 to 43 gestation weeks. *Ann Med*. 2013 Sep; 45(5-6):446-54. DOI:10.3109/07853890.2013.803739
View at: Publisher Site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/07853890.2013.803739>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23768051/>
29. Melamed N, Yogeve Y, Glezerman M. Effect of fetal sex on pregnancy outcome in twin pregnancies. *Obstet Gynecol*. 2009 Nov;114(5):1085-92. DOI:10.1097/AOG.0b013e3181bd8874
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2009/11000/Effect_of_Fetal_Sex_on_Pregnancy_Outcome_in_Twin.19.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20168111/>
30. Lampl M, Gotsch F, Kusanovic JP, Gomez R, Nien JK, Frongillo EA, Romero R. Sex Differences in Fetal Growth Responses to Maternal Height and Weight. *Am J Hum Biol*. 2010 Jul;22(4):431-43. DOI:10.1002/ajhb.21014
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajhb.21014>

PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19950190/>
 PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3437780/>

article/abs/pii/S1521693416301109?via%3Dihub
 Pub Med: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27940123/>

31. Figueras F, Gratacos E. An integrated approach to fetal growth restriction. Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2017 Jan;38:48-58. DOI:10.1016/j.bpobgyn.2016.10.006
 View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/>

Article history
 Received: 14.03.2021
 Revision requested: 20.03.2021
 Revision received: 25.02.2021
 Accepted: 29.03.2021
 Published: 31.03.2021

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МАССЫ ПЛОДОВ ПРИ РОЖДЕНИИ ПРИ РАЗНЫХ ВАРИАНТАХ ДВОЕН

Теплая И.В.

Национальный университет здравоохранения Украины имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

iryna.tepla@ukr.net

Актуальность исследования обусловлена существенным увеличением количества многоплодных беременностей, большим риском возникновения перинатальных осложнений, наличием противоречий относительно влияния хориальности и пола детей на их массу при рождении, необходимостью своевременной диагностики задержки роста плода.

Цель: сравнение масс плодов при рождении различных вариантов двоен в зависимости от хориальности, гестационного возраста и пола.

Материалы и методы. В течение 2016-2020 годов обследовано 440 пар близнецов: 375 дихориальных диамниотических и 65 монохориальных диамниотических. Среди дихориальных пар было 186 (49,6%) разнополых, 98 (26,1%) однополых мужских и 91 (24,3%) однополых женских. Измеряли массу плодов при рождении, оценивали ее связь с хориальностью, полом плодов, какого пола другой плод в паре, гестационным возрастом.

Результаты. Средняя масса 750 плодов из дихориальных пар ($2570,0 \pm 506,43$ г) достоверно превышала массу 130 плодов из монохориальных пар ($2333,4 \pm 567,24$ г, $p < 0,0001$). Масса дихориальных двоен мужского пола ($2603,8 \pm 532,29$ г) и разнополых ($2595,6 \pm 490,17$ г) превышала массу всех других двоен ($p < 0,05$). В группе дихориальных двоен масса мальчиков превышала массу девочек ($2638,1 \pm 525,96$ г против $2499,4 \pm 475,84$ г, $p = 0,0002$), как в середине разнополых пар ($2674,2 \pm 518,17$ г против $2517,1 \pm 448,24$ г, $p = 0,0019$), так и однополых пар мальчиков по сравнению с однополыми парами девочек ($2603,8 \pm 532,29$ г и $2481,4 \pm 503,08$ г соответственно, $p = 0,0224$). Не выявлено существенной разницы в массе девочек из разнополых двоен по сравнению с однополыми парами. В монохориальных парах масса плодов мужского и женского пола существенно не отличалась. Дискордантность массы плодов встречалась при всех типах двоен, наибольший процент зарегистрирован у монохориальных мальчиков – 23,7%, на втором месте по частоте были дихориальные пары мужского пола – 20,4%. Среди 30 дискордантных дихориальных разнополых двоен в 19 (63,3%) случаях тяжелее был мальчик. Не выявлено существенной разницы в массе плодов при оплодотворении женщин естественным путем и с использованием вспомогательных репродуктивных технологий. Средняя масса детей, рожденных суррогатными матерями, превышала массу детей, рожденных несуррогатными матерями ($p = 0,0466$). Больше масса плодов была у женщин с повторной беременностью и родами в анамнезе.

Выводы. Средняя масса плодов дихориальных двоен превышала массу плодов монохориальных пар. Превалирование массы мальчиков над массой девочек в дихориальных парах и отсутствие половой разницы в массе плодов в монохориальных двойнях указывает на возможность различной, сцепленной с полом, функциональной активности плацент. Малые для гестационного возраста плоды чаще всего встречались в группе монохориальных двоен женского пола и разнополых дихориальных парах. Дискордантность массы плодов чаще всего встречалась при монохориальных двойнях мужского пола. В дискордантных разнополых парах чаще более тяжелым был плод мужского пола. Не выявлено существенной разницы в массе плодов при оплодотворении женщин естественным путем и с использованием вспомогательных репродуктивных технологий. Средняя масса детей, рожденных суррогатными матерями, превышала массу детей, рожденных несуррогатными матерями. При первой беременности рождались дети с меньшей массой тела по сравнению с детьми, рожденными женщинами с повторными беременностями и родами.

Ключевые слова: гестационный возраст, двойни, дискордантность массы плодов, задержка роста плода, малый для гестационного возраста плод.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE NEONATE BIRTH WEIGHT IN DIFFERENT TYPES OF TIN PREGNANCY

Tepla I.

Department of Obstetrics and Gynecology No.1, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

iryna.tepla@ukr.net

Relevance of the study lies in the significant increase in multiple pregnancies connected with the higher risk of perinatal complications, the controversy over the effects of chorionicity and sex of the babies on their birth weight, the need for timely diagnosis of fetal growth restriction and associated morbidity.

Objective of this study was to compare fetal weights at birth of different variants of twins depending on chorionicity, gestational age and sex.

Materials and methods. During 2016-2020, 440 pairs of twins were examined: 375 dichorionic diamniotic and 65 monochorionic diamniotic (38 – boys, 27 – girls). Among dichorionic couples there were 186 (49.6%) opposite-sex, 98 (26.1%) same-sex males and 91 (24.3%) same-sex females. Fetal weight was measured at birth, and its relationship to chorionicity, fetal sex, a combination of same-sex or opposite-sex co-twins, and gestational age was assessed.

Results. The average weight of 750 fetuses from dichorionic pairs (2570.0 ± 506.43 g) significantly exceeded the weight of 130 fetuses from monochorionic pairs (2333.4 ± 567.24 g, $p < 0.0001$). The same-sex male (2603.8 ± 532.29 g) and opposite-sex dichorionic diamniotic (2595.6 ± 490.17 g) twins' masses significantly surpassed the mass of all other twins ($p < 0.05$). In the group of dichorionic twins, the weight of boys exceeded the weight of girls (2638.1 ± 525.96 g vs. 2499.4 ± 475.84 g, $p = 0.0002$). This pattern was observed both inside the opposite-sex pairs (2674.2 ± 518.17 g vs. 2517.1 ± 448.24 g, $p = 0.0019$), and same-sex couples of boys compared to same-sex couples of girls (2603.8 ± 532.29 g and 2481.4 ± 503.08 g, respectively, $p = 0.0224$). No significant difference in the weight of girls of opposite-sex twins compared to same-sex couples was seen. In monochorionic pairs, the weight of male and female fetuses did not differ significantly. Birth weight discordance was found in all types of twins, the highest percentage of discordance was registered in monochorionic boys – 23.7%, second place in frequency took male dichorionic twins – 20.4%. Among the 30 discordant dichorionic opposite-sex twins in 19 (63.3%) cases, the male fetus was heavier. There was no significant difference in fetal weight when women were fertilized naturally and using assisted reproductive technologies. The average weight of children born by surrogate mothers exceeded the weight of children born by non-surrogate mothers ($p = 0.0466$). In the first pregnancy, children were born with a lower body weight compared to children born as a result of repeated pregnancies and in women who had a history of childbirth.

Conclusion. The average weight of the fetuses of dichorionic twins was higher than the weight of the neonates of monochorionic pairs. The prevalence of the weight of boys over the weight of girls from dichorionic pairs and the absence of sex difference in fetal weight in monochorionic twins indicates the possibility of different functional activity of the placenta in fetuses of different sexes. Small for gestational age newborns were most often found in the group of female monochorionic twins and opposite-sex dichorionic pairs. Discordance of fetal mass was most common in monochorionic same-sex male twins. In discordant opposite-sex couples, the male fetus more often was heavier. There was no significant difference in newborn weight when women were fertilized naturally and with the use of assisted reproductive technologies. The average weight of surrogate-born children exceeded the weight of children born by non-surrogate mothers. In the first pregnancy, children were born with a lower body weight compared to children of multiparous and multigravida women.

Keywords: birth weight discordance, fetal growth restriction, gestational age, small for gestational age newborn, twins.

THE EFFECTIVENESS OF ORAL SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) ON TOTAL ANTIOXIDANT STATUS, TRANSEPIDERMAL WATER LOSS (TEWL) AND SEBUM CONCENTRATION IN PHOTO AGING SKIN

Khairuddin Djawad <https://orcid.org/0000-0002-2322-7633>

Dewi Anggraini <https://orcid.org/0000-0003-1086-8615>

Medical Faculty, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia

duddindjawad@gmail.com

Relevance. Aging is a progressive process of decrease in organs functions and capacity, including the skin. Photoaging is extrinsic aging mainly occur due to ultraviolet (UV) exposure. The effectiveness of oral SOD for premature aging is still not yet known.

Objective: we aimed to evaluate the effectiveness of this antioxidant on total antioxidant status (TAS), skin hydration (TEWL), and sebum concentration in premature skin aging.

Methods. This study is a clinical trial research design with one group pre-post test. All subjects who were exposed to UV for approximately 3-4 hours. All subjects signed an informed consent and were interviewed accordingly. Photoaging was diagnosed clinically by three dermatologists according to Glogau type II classification such as dynamic wrinkles, palpable keratosis, visible lentigo senilis, and smiley line. SOD 250 IU was given to all subjects twice daily for 60 days. Laboratory examinations such as TAS, TEWL, and sebum concentration were done pre and post-intervention.

Results. A total of 25 subjects, Fitzpatrick skin type 4 were included in this study. There were 14 males and 11 females with 20 subjects age 30-40 years old and 5 subjects age 25-29 years old. Fourteen (56%) out of 18 subjects from low TAS group have normal TAS post-treatment with SOD. McNemar test showed a significant increase in TAS value pre and post-treatment with SOD ($p < 0.05$). TEWL measurement on cheek showed 9 out of 10 subjects from the strained group have normal TEWL post-treatment, while all 3 subjects from the critical group have normal TEWL value. Measurement on the forehead showed 7 subjects from the strained group have a normal TEWL. Sebumeter on the forehead showed 17 subjects from dry skin group 14 (56%) subjects have normal skin, 1 (4%) subject becomes oily, and 2 subjects remains dry post-treatment with SOD for 60 days. All subjects with dry skin on U zone become normal skin post-treatment.

Conclusion. SOD significantly increased TAS value, decreased TEWL, and improvement of skin dryness post-treatment with SOD for 60 days.

Keywords: Superoxide Dismutase, TAS, TEWL, Sebum

Relevance. Aging is a progressive process of decrease in organs functions and capacity, including the skin [1]. The aging process was divided into intrinsic and extrinsic pathways. Intrinsic aging is a chronologically aging process, associated with genetic factors, while extrinsic aging is environmentally mediated. Extrinsic aging which is also referred to photoaging, result in skin damaged due to ultraviolet (UV) exposure [2]. Photo damaged skin has acanthotic epidermis and more profound decrease in Langerhans cell compared to intrinsic aging. Differences in UV defense mechanism between white skin and darker skin types provides differences in clinical manifestations. Most common clinical signs in Asian skin are solar lentigines and mottled pigmentation, while wrinkles only occur in sixth decade and have intense sun exposure [1]. Histopathologically, photoaged skin has a significant increase in fiber bundles spaces, thinning of fibers, and increased disorganization of fiber proteins [3-5].

One of the main contributing factors in the cellular aging process is the overproduction of Reactive Oxygen Species (ROS) and resulted in oxidative stress [6]. ROS is produced during normal intracellular metabolism and has an important role in cell differentiation, proliferation,

and host defense response, but UV radiation is also known as a potent initiator of ROS productions in the skin [7-8]. ROS can be divided into oxygen molecules that have unpaired electron (includes superoxide anion radicals, hydroxyl radicals, lipid peroxyl radicals, nitric oxide radicals) and in an excited state (singlet oxygen). Superoxide anion radicals can be spontaneously converted to hydrogen peroxide or metabolized by superoxide dismutase (SOD) [8].

Enzymatic and non-enzymatic antioxidants act systemically to scavenge free radicals. The enzymatic antioxidant is the main defense mechanism against ROS in vitro and consists of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), and glutathione reductase (GR). Two main types of SOD are CuZnSOD (SOD1) and MnSOD (SOD2) [9, 10]. The non-enzymatic antioxidant (vitamin C, E) as the second line defense system, not only provide direct protection against oxidative damage, but it also enhances the endogenous enzymatic antioxidant synergistically [11]. SOD is a substantial antioxidant defense against oxidative stress which has anti-inflammatory properties and also prevents

precancerous cell changes. It is commonly used in as anti-aging and antioxidant that can reduce wrinkles, fine lines, and age spots [12, 13].

Stimulation of sebaceous gland function due to oxidative stress induced by UV radiation will subsequently increase sebum secretion. It might be due to increased levels of oxidized lipids, triglyceride hydroperoxides, and cholesterol hydroperoxides [14].

The total antioxidant status examination is regarded as one of the parameters used to evaluate the negative effect of antioxidants, which is considered as an oxidative stress indicator. Giving antioxidant in low total antioxidant status can reduce the negative impact of free radicals [15]. The antioxidant such as SOD can stimulate the production of endogenous antioxidants, increase antioxidant status, and prevent disease manifestation due to free radicals.

Objective: The effectiveness of oral SOD for premature aging is still not yet known, thus we aimed to evaluate the effectiveness of this antioxidant on total antioxidant status (TAS), skin hydration (TEWL), and sebum concentration in premature skin aging.

METHODS

Study design. This study is a clinical trial research design with one group pre-post test.

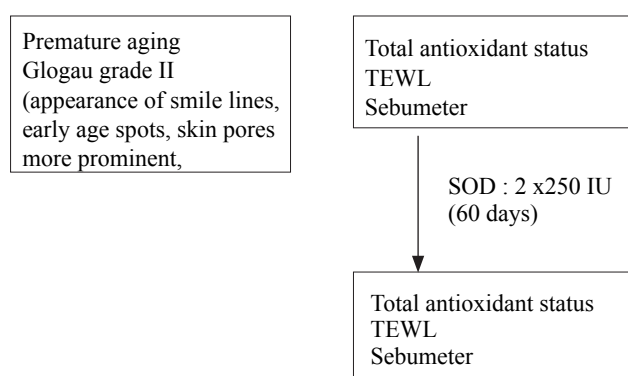


Fig. 1. Study Flow Chart

Subject characteristic. The study population was all patient with premature aging consulted at Outpatient Department, Department of Dermatology and Venereology, Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital, Cosmetic Subdivision, Makassar. Inclusion criteria were all patient diagnosed with photoaging clinically with a good general condition, neither taking antioxidant (vitamin C, E, β -carotenoid, Lycopene, Leucoselect phytosome, etc), having dermatitis or skin inflammation on the face and surroundings. Patients with chronic disease, pregnant, on maintenance with any cosmetics, rejuvenation treatment with topical antioxidant, topical retinoid, or chemical peeling will be excluded from this study.

Sample size. Total sample size 25 subjects and sampling was done in a proportional manner where all the subjects were sorted according to an initial visit at OPD.

Study Protocol. All subjects signed the informed consent and were interviewed accordingly. They filled in a questionnaire and were examined clinically by three dermatologists for signs of premature aging according to Glogau type II classification such as wrinkles in motion, palpable keratosis, visible lentigo senilis, and smiley line. SOD 250 IU was given to all subjects twice daily for 60 days. Laboratory examinations such as TAS, TEWL, and sebum concentration were done pre and post-intervention:

1. **Evaluation of TAS.** Venipuncture was done in each subject to measure the total antioxidant serum (TAS) level pre and post-treatment. The TAS level examination was done using ELISA with human total antioxidant capacity (T-AOC) kit (Bioassay Technology Laboratory) following the instruction from the manufacturer.
2. **TEWL measurement.** Interpretation of TEWL measurement seen in Table 1, according to the protocol in all samples using Tewameter/Cornoemeter 350 (TC350) made by Courage & Khazaka electronic GmbH, Jerman year 1997.

Table 1

Interpretation using Tewameter

TEWL values g/h/m ²	Interpretation
0 – 10	Very healthy condition
10 – 15	Healthy condition
15 – 25	Normal condition
25 – 30	Strained condition
>30	Critical condition

Sebum concentration. Interpretation of sebum concentration seen in the Table 2, according to protocol in all samples using Sebumeter[®] SM 815 made by Courage & Khazaka electronic GmbH, Jerman year 2003.

Table 2

Interpretation using Sebumeter

Skin type	Whole face (MSFE)	T zone (forehead, nose, chin)	U zone (cheek)
Dry	<88	<100	<70
Normal	88 – 204	100 – 220	70 – 180
Oily	>204	>220	>180

Data analysis. Collected data were analyzed using SPSS version 11.5. McNemar test was being used for the hypothesis to compare antioxidant value pre and post-treatment. Significant value if $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Subject characteristics. A total of 25 subjects, Fitzpatrick skin type 4 were included in this study. There were 14 males and 11 females with 20 subjects age 30-40 years old and 5 subjects age 25-29 years old. All patients have to work outside for approximately 3-4 hours of UV exposure.

On physical examination, all subjects have a dynamic wrinkle, 23 subjects have seborrheic keratosis and smiley line, 5 subjects have lentigo senilis. Eleven (44%) subjects not a smoker, and from 14 smokers, 8 (32%) subjects have 1 pack a week and 6 (24%) subjects have 1-2 packs per day.

Total antioxidant status (TAS). TAS value pre-treatment with SOD was low in 18 (72%) subjects and normal in 7 (28%) subjects. It was found that 14 (56%) out of 18 subjects from low TAS group have normal TAS post-treatment with SOD. McNemar test showed a significant increase in TAS value pre and post-treatment with SOD ($p < 0.05$). McNemar test p -value = 0,000.

Table 3

Mean value on TAS, TEWL, and sebum concentration pre and post-treatment with SOD in premature aging subjects

Measurement	N	Mean $\pm$ SD	
		Pre-treatment	Post-treatment
TAS	25	1,187 $\pm$ 0,169	1,545 $\pm$ 0,174
TEWL cheek	25	24,82 $\pm$ 4,489	17,56 $\pm$ 2,662
TEWL forehead	25	24,52 $\pm$ 4,869	18,54 $\pm$ 3,214
Sebumeter cheek	25	40,80 $\pm$ 19,177	77,76 $\pm$ 23,392
Sebumeter chin	25	56,96 $\pm$ 24,337	110,52 $\pm$ 37,734

paired T test ($p = 0,000$)

Table 4

TEWL measurement on the cheek and forehead pre and post-treatment with SOD

TEWL Pre-treatment Healthy N (%)		TEWL post-treatment			Total N (%)
		Normal N (%)	Strained N (%)		
Cheek	Normal	3 (12)	9 (36)	0 (0)	12 (48)
	Strained	1 (4)	9 (36)	0 (0)	10 (40)
	Critical	0 (0)	3 (12)	0 (0)	3 (12)
	Total	4 (16)	21 (84)	0 (0)	25 (100)
Forehead	Normal	3 (12)	11 (44)	0 (0)	14 (56)
	Strained	0 (0)	7 (28)	1 (4)	8 (32)
	Critical	1 (4)	1 (4)	1 (4)	3 (12)
	Total	4 (16)	19 (76)	2 (8)	25 (100)

Transepidermal water loss (TEWL). TEWL measurement on cheek showed 9 out of 10 subjects from the strained group have normal TEWL post-treatment, while all 3 subjects from the critical group have normal TEWL value. Measurement on the forehead showed 7 subjects from the strained group have a normal TEWL, while 3 subjects from the critical group have a healthy TEWL in 1 subject, have normal value in 1 subject and 1 subject remains in critical value (Table 4).

Sebumeter. Sebumeter on forehead showed 17 subjects from dry skin group 14 (56%) subjects have normal skin post-treatment with SOD for 60 days. On U zone (cheek), all subjects have dry skin and 18 (72%) of them becoming normal skin.

Table 5

Sebumeter pre- and post-treatment with SOD

Sebumeter pre-treatment Dry N (%)		Sebumeter post-treatment			Total N (%)
		Normal N (%)	Oily N (%)		
T zone / forehead	Dry N (%)	2 (8)	14 (56)	1 (4)	17 (68)
	Normal N (%)	0 (0)	8 (32)	0 (0)	8 (32)
	Total N (%)	2 (8)	22 (88)	1 (4)	25 (100)
U zone / cheek	Dry N (%)	7 (28)	18 (72)	0 (0)	25 (100)
	Normal N (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Total N (%)	7 (28)	18 (72)	0 (0)	25 (100)

Dverse events. There were no adverse events found in this study.

Ultraviolet radiation can induce matrix metalloproteinases and be sustained with multiple exposures [16]. Matrix metalloproteinases are proteolytic enzymes that degrade proteins in connective tissue particularly collagen and elastin. They are important for matrix remodeling during wound healing [17]. It is also considered as the primary mediators of connective tissue damage in photodamaged skin [16]. Photoaging affects all three layers of the epidermis, but changes in the dermal layer seem to be the primary process in nature, while epidermal changes are often secondary [18].

A total of 25 subjects included in this study with more than 80% of them age 30-40 years old. Excessive UV exposure can cause severe photoaging as early as the second decade of life [19]. Photoaging signs are more evident in most women on 2nd-3rd decade of life [20]. Other literature stated that extrinsic aging begins in the second decade [21].

Skin as the first line barrier from the surrounding environment, which can produce oxidative stress [6]. Environmental factors such as sun radiation (ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation), air

pollution, tobacco smoke, cosmetic products are known contributes to skin aging by the formation of oxidative stress [18]. UVR has been considered as a potential contributor for free radicals. Exposure to the skin causing absorption of photons by natural chromophores, which includes porphyrins, flavins, bilirubin, urocanic acid, vitamin K and B6 derivatives, and even DNA. On excitation, chromophores will be having molecular changes, thus becoming electron donors. Reaction with other electron form free radicals that finally result in oxidative stress [6, 22]. Free radicals can be formed naturally from normal cell metabolism thus causing oxidative stress [23]. Oxidative stress affects skin aging through several mechanisms, includes decreasing proteasome function [24], DNA damage [25], replicative senescence in human dermal fibroblast and melanocytes [26], shortening of the telomeres [6]. The skin has a defense mechanism against oxidative stress with an antioxidant enzyme produced within the body, such as SOD, catalase, GR, GSH-Px, etc. [27].

Collagen is an important component of the skin. Loss of collagen will promote sagging, signs of aging, and decrease skin hydration. Collagen fragment products promote a further increase of ROS in dermal fibroblasts [28]. A decrease in collagen can activate receptor-mediated signaling pathways of various cytokines and growth factors within the keratinocytes and dermal fibroblasts. Induction of c-Jun will form a component of activator protein 1 (AP-1) and nuclear factor κ B (NF- κ B) [29, 30]. The induction of these proteins leads to decreased collagen synthesis and increased collagen breakdown through the activation of metalloproteinases (MMPs), collagenases, and gelatinase. Failure of dermis repair result in solar elastosis histopathologically and lead to visible signs of photo-aging [6].

ROS accumulation plays an important role in photoaging where antioxidant enzyme significantly declines on the corneum layer and increase the concentration of protein oxidation in the upper dermis [31]. Our study showed SOD increased TAS value and sebum concentration while decreasing in TEWL.

Superoxide dismutases are a group of metalloenzymes included as enzymatic antioxidants against ROS-mediated injury [32]. SODs can be classified into the following: Copper-Zinc-SOD (Cu, Zn-SOD), Iron SOD (Fe-SOD), Manganese SOD (Mn-SOD), and Nickel SOD [33, 34], but two main types are CuZnSOD (SOD1) and MnSOD (SOD2) [9, 10]. Natural SOD within the body will decrease with age hence they are more susceptible to oxidative stress-mediated diseases [35].

SOD has been widely used in cosmetic products as anti-aging and antioxidant because it can reduce free radical skin damage and also protect against UV radiation, faster wound healing, and reduce another skin aging [13]. SOD synthetic offers a potential treatment due to their smaller size, longer half-life, and have similar

activity with natural SOD by converting O_2^- into H_2O_2 then further converted into water by catalase [36].

SOD as the primary antioxidant is first line defense mechanism against oxidative stress. SOD has high catalytic rate and can renew itself constantly, while secondary antioxidants are quickly exhausted and no possibility of renewal [37]. The antioxidant defense mechanism of the skin has been reported in many studies where a single exposure to UVB can induce disruption of antioxidant defense mechanism and SOD activity in the epidermal layer [38, 39]. Administration of antioxidant supplementation in low endogenous antioxidant after UV exposure can prevent oxidative stress-mediated skin damage [40].

Nicotine and other substances in tobacco have known to cause unfavourable skin changes or even skin cancer. Tobacco can accelerate skin aging natural process that can be observed in 40 years smoker skin which is similar with 70-year-old non-smoker skin. Skin damage due to tobacco is irreversible and further damage can only be reduced by smoking cessation [41].

Yin et al studied the correlation between tobacco smoking and skin aging. They investigated the alterations of collagen, matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in human fibroblast treated with tobacco smoke extract. Human fibroblasts exposed to UVA1 radiation were used as positive controls. Collagen synthesis was found reduced by 40.1% with 25 micro/ml of tobacco smoke extract. The expression of MMP-1 and MMP-3 mRNA were significantly increased with tobacco smoke extract or UVA1 radiation. Antioxidants such as sodium azide, L-ascorbic acid and Trolox can prevent alteration of MMP-1 induced either by tobacco or UVA1 [42]. Rocquet et al found that smoking can increase MMP-1 activity on the skin causing an imbalance of MMP-1 and TIMP-1, which plays an important role in skin aging [31].

Miyachi et al conducted studies on mice and found that UVB contributes to the lower SOD activity in the skin. In human, a decrease in SOD activity was also found in fibroblasts and catalase activity after UVB. The imbalance between oxidants and antioxidants will cause continuous and increase in cumulative oxidative stress. Environmental factor such as pollutants can accelerate the aging process, and exogenous antioxidants reduce the toxicity of ROS [43]. Antioxidants can be considered as a strategy against excessive ROS and subsequently lower the incidence of photoaging [27].

TEWL has been known to be increased during skin barrier disruption, which can be caused by chemical, microorganisms, physical trauma, and UV radiation [44]. TEWL has commonly used a parameter to assessed photoprotective effect on the skin, especially epidermal barrier function disruption due to UV radiation [45]. Wang et al investigated the effect of chronic UV exposure on skin barrier function and photoaging. They

compared TEWL of UV-exposed skin areas with UV-nonexposed skin areas in elderly (>50 years old). There were increased TEWL levels on UV-exposed skin but there was not statistically different ($p>0.05$) compared to UV-nonexposed skin areas. This result might be due to subjects were from the geriatric group with relatively higher TEWL. In contrast to our study, there was a significant improvement of TEWL in younger age groups after SOD administration [46]. Recently, there were not yet available studies of antioxidants in decreasing TEWL and increasing sebum concentration.

UV radiation especially UVA have deeper penetration and damage sebaceous glands. An experimental study by Leyden et al in UV induced photoaged hairless mice showed marked sebaceous glands hyperplasia. This result is similar to study by Di Cerbo et al which significant increase in sebum concentration occurred in patients with photoaging ($p<0.001$) [47]. In contrast, our study showed an improvement of skin dryness seen in all subjects with dry skin has normal skin after 60 days of SOD. Study by Tokudome et al showed a decrease in intracellular lipid content and decreased in proportion to the number of differentiated cells. Antioxidants inhibit sebaceous lipid production by suppressing differentiation of sebocyte [48].

In terms of adverse events, all subjects had no adverse events after 2 months of taking SOD 250 IU twice daily for 60 days. A similar result was also found in a study by Garcia-Gonzales et al. [49].

CONCLUSION

There were a significant increase in TAS value, decrease in TEWL, and improvement of skin dryness after taking oral SOD for 2 months.

REFERENCES

1. Yaar M, Gilchrist B. Aging of Skin. In: Goldsmith L, Katz S, Gilchrist B, Paller A, Leffell D, Wolff K, editors. Fitzpatrick Dermatology in General Medicine. 1. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2012. p. 1213-26. View in: URL: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=392§ionid=41138823>
2. Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*. 2015;5(2):545-89. DOI: 10.3390/biom5020545 View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/2218-273X/5/2/545> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25906193/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4496685/>
3. Mera S, Lovell C, Jones RR, Davies J. Elastic fibres in normal and sun-damaged skin: an immunohistochemical study. *British Journal of Dermatology*. 1987;117(1):21-7. DOI: 10.1111/j.1365-2133.1987.tb04086.x View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2133.1987.tb04086.x> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3651333/>
4. Warren R, Gartstein V, Kligman AM, Montagna W, Allendorf RA, Ridder GM. Age, sunlight, and facial skin: a histologic and quantitative study. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1991;25(5):751-60. DOI: 10.1016/s0190-9622(08)80964-4 View at: Publisher Site: [https://www.jaad.org/article/S0190-9622\(08\)80964-4/pdf](https://www.jaad.org/article/S0190-9622(08)80964-4/pdf) PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1802896/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/1802896>
5. Kelly RI, Pearse R, Bull RH, Leveque J-L, de Rigal J, Mortimer PS. The effects of aging on the cutaneous microvasculature. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1995;33(5):749-56. DOI: 10.1016/0190-9622(95)91812-4 View at: Publisher Site: [https://www.jaad.org/article/0190-9622\(95\)91812-4/fulltext](https://www.jaad.org/article/0190-9622(95)91812-4/fulltext) PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7593773/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/7593773>
6. Ahsanuddin S, Lam M, Baron ED. Skin aging and oxidative stress. 2016. *AIMS Molecular Science*. 2016; 3(2):187-195. DOI: 10.3934/molsci.2016.2.187 View at: Publisher Site: <http://www.aimspress.com/article/10.3934/molsci.2016.2.187>
7. Sroka J, Madeja Z. [Reactive oxygen species in regulation of cell migration. The role of thioredoxin reductase]. *Postepy biochemii*. 2009;55(2):145-52. [in Polish] View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19824470/>
8. Masaki H. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *Journal of dermatological science*. 2010;58(2):85-90. doi: 10.1016/j.jdermsci.2010.03.003 View at: Publisher Site: [https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811\(10\)00078-2/fulltext](https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811(10)00078-2/fulltext) PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20399614/> Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/20399614>
9. Matés JM, Sánchez-Jiménez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. 1999;4(4):0339-345. DOI: 10.2741/mates View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10077544/>
10. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2004;61(2):192-208. DOI: 10.1007/s00018-003-3206-5 View at: Publisher Site: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00018-003-3206-5> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14745498/> Europe PMC: <http://europepmc.org/article/MED/14745498>
11. Balsano C, Alisi A. Antioxidant effects of natural bioactive compounds. *Current pharmaceutical design*. 2009;15(26):3063-73. DOI:

- 10.2174/138161209789058084
View at: Publisher Site: <https://www.eurekaselect.com/69944/article>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19754380/>
12. Yasui K, Baba A. Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation. *Inflammation Research*. 2006;55(9):359-63. DOI: 10.1007/s00011-006-5195-y
View at: Publisher Site: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00011-006-5195-y>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17122956/>
Europe PMC: <http://europepmc.org/article/MED/17122956>
13. Corvo ML, Jorge JC, van't Hof R, Cruz MEM, Crommelin DJ, Storm G. Superoxide dismutase entrapped in long-circulating liposomes: formulation design and therapeutic activity in rat adjuvant arthritis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2002;1564(1):227-36. DOI: 10.1016/S0005-2736(02)00457-1
View at: Publisher Site: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273602004571?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12101017/>
Europe PMC: <http://europepmc.org/article/med/12101017>
14. Akitomo Y, Akamatsu H, Okano Y, Masaki H, Horio T. Effects of UV irradiation on the sebaceous gland and sebum secretion in hamsters. *Journal of dermatological science*. 2003;31(2):151-9. DOI: 10.1016/S0923-1811(03)00003-3
View at: Publisher Site: [https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811\(03\)00003-3/fulltext](https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811(03)00003-3/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12670726/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/12670726>
15. Faidati W, Barakbah J. Penilaian status antioksidan total pada penderita kusta di unit rawat jalan penyakit kulit dan kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *MDVI*. 2001;28(SII):209S-14S.
16. Fisher GJ, Wang Z, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *New England Journal of Medicine*. 1997;337(20):1419-29. DOI: 10.1056/NEJM199711133372003
View at: Publisher Site: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejm199711133372003>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9358139/>
17. Birkedal-Hansen H, Moore W, Bodden M, Windsor L, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1993;4(2):197-250. doi: 10.1177/10454411930040020401
View at: Publisher Site: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/10454411930040020401>
Publisher Site pdf: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/10454411930040020401>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8435466/>
18. Krutmann J, Boulouc A, Sore G, Bernard BA, Passeron T. The skin aging exposome. *Journal of dermatological science*. 2017;85(3):152-61. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2016.09.015
View at: Publisher Site: [https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811\(16\)30816-7/fulltext](https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811(16)30816-7/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27720464/>
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923181116308167>
19. Oikarinen A. Aging of the skin connective tissue: how to measure the biochemical and mechanical properties of aging dermis. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*. 1994;10(2):47-52.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8043384/>
Semantic Scholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/Aging-of-the-skin-connective-tissue%3A-how-to-measure-Oikarinen/43b90f22899ad869b5728e36715914da21434a50>
20. Guinot C, J-M Malvy D, Ambroisine L, Latreille J, Mauger E, Tenenhaus M, et al. Relative Contribution of Intrinsic vs Extrinsic Factors to Skin Aging as Determined by a Validated Skin Age Score. *Archives of dermatology*. 2002;138:1454-60. DOI: 10.1001/archderm.138.11.1454.
View at: Publisher Site: <https://jamanetwork.com/journals/jamadermatology/article-abstract/479070>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12437451/>
21. Draelos ZK. *Cosmetics in Dermatology*: Churchill Livingstone. Edinburgh, 1995.
22. Watson RE, Gibbs NK, Griffiths CE, Sherratt MJ. Damage to skin extracellular matrix induced by UV exposure. *Antioxidants & redox signaling*. 2014;21(7):1063-77. DOI: 10.1089/ars.2013.5653
View at: Publisher Site: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2013.5653>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24124905/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/24124905>
23. Chung JH. Photoaging in Asians. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*. 2003;19(3):109-21. doi: 10.1034/j.1600-0781.2003.00027.x.
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1034/j.1600-0781.2003.00027.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12914595/>
Scopus: <https://snucm.elsevierpure.com/en/publications/photoaging-in-asians>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/12914595>
24. Petropoulos I, Conconi M, Wang X, Hoeneil B, Brégère Fo, Milner Y, et al. Increase of oxidatively modified protein is associated with a decrease of proteasome activity and content in aging epidermal cells. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2000;55(05):B220-B7. doi: 10.1093/gerona/55.5.b220
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article/55/05/B220/2948112>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10819308/>

25. Kohen R, Nyska A. Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*. 2002;30(6):620-50. doi: 10.1080/01926230290166724
View at: Publisher Site: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1080/01926230290166724>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12512863/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/12512863>
26. Toussaint O, Medrano E, Von Zglinicki T. Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes. *Experimental gerontology*. 2000;35(8):927-45. DOI: 10.1016/s0531-5565(00)00180-7
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0531556500001807?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11121681/>
27. Swindells K, Rhodes L. Influence of oral antioxidants on ultraviolet radiation-induced skin damage in humans. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*. 2004;20(6):297-304. DOI: 10.1111/j.1600-0781.2004.00121.x
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1600-0781.2004.00121.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15533237/>
28. Fisher GJ, Quan T, Purohit T, Shao Y, Cho MK, He T, et al. Collagen fragmentation promotes oxidative stress and elevates matrix metalloproteinase-1 in fibroblasts in aged human skin. *The American journal of pathology*. 2009;174(1):101-14. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080599
View at: Publisher Site: [https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440\(10\)61269-2/fulltext](https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440(10)61269-2/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19116368/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2631323/>
29. Fisher GJ, Voorhees JJ, editors. Molecular mechanisms of photoaging and its prevention by retinoic acid: ultraviolet irradiation induces MAP kinase signal transduction cascades that induce Ap-1-regulated matrix metalloproteinases that degrade human skin in vivo. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*; 1998: Elsevier.
View at: Publisher Site: <https://core.ac.uk/download/pdf/82734732.pdf>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9732061/>
30. Fisher GJ, Datta SC, Talwar HS, Wang Z-Q, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature*. 1996;379(6563):335. DOI: 10.1038/379335a0.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/379335a0>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8552187/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/8552187>
31. Rocquet C, Bonté F. Molecular aspects of skin ageing: recent data. *ACTA Dermatovenerologica alpina panonica et adriatica*. 2002;11(3):71-94.
View at: Publisher Site: <http://www.acta-apa.org/journals/acta-dermatovenerol-apa/papers/10.15570/archive/2002/3/Rocquet.pdf>
ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/281894397_Molecular_aspects_of_skin_ageing_Recent_data
32. Kangralkar V, Patil SD, Bandivadekar R. Oxidative stress and diabetes: a review. *Int J Pharm Appl*. 2010;1(1):38-45.
View at: Semantic Scholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/OXIDATIVE-STRESS-AND-DIABETES%3A-A-REVIEW-Kangralkar-Patil/307ad115a657548765f8ba540f8da6cef755872e>
33. Miller A. Fe superoxide dismutase. In: Messerschmidt A, Huber R, Poulos T, Wieghart K, editors. *Handbook of Metalloproteins*. Chichester: John Wiley & Sons; 2001. p. 668-82.
View at: Publisher Site: <http://www.docme.su/doc/1930200/edited-by-a.-messerschmidt-r.-huber-t.-poulos-and-k.-wi...>
Onlinelibrary: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aoc.298>
34. Hong-Duk Y, Eun-Ja K, Jung-Hye R, HAH YC, Sa-Ouk K. A novel nickel-containing superoxide dismutase from *Streptomyces* spp. *Biochemical Journal*. 1996;318(3):889-96. DOI: 10.1042/bj3180889
View at: Publisher Site: <https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/318/3/889/32962/A-novel-nickel-containing-superoxide-dismutase?redirectedFrom=fulltext>
SemanticScholar: <https://pdfs.semanticscholar.org/f45a/e6a08be9c1bffee50c33244229e49e3e1772.pdf>
35. İnal ME, Kanbak G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clinica Chimica Acta*. 2001;305(1-2):75-80. doi: 10.1016/s0009-8981(00)00422-8.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898100004228?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11249925/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/11249925>
36. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2018;12(3):88-93.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29896077/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5969776/>
37. Bafana A, Dutt S, Kumar A, Kumar S, Ahuja PS. The basic and applied aspects of superoxide dismutase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2011;68(2):129-38. DOI: 10.1016/j.molcatb.2010.11.007
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1381117710002900?via%3Dihub>
38. Takahashi H, Hashimoto Y, Aoki N, Kinouchi M, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Copper, zinc-superoxide dismutase protects from ultraviolet B-induced apoptosis of SV40-transformed human keratinocytes: the protection is associated with the increased

- levels of antioxidant enzymes. *Journal of dermatological science*. 2000;23(1):12-21. DOI: 10.1016/s0923-1811(99)00060-2
View at: Publisher Site: [https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811\(99\)00060-2/fulltext](https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811(99)00060-2/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10699760/>
39. Filipe P, Emerit I, Vassy J, Rigaut J, Martin E, Freitas J, et al. Epidermal localization and protective effects of topically applied superoxide dismutase. *Experimental dermatology*. 1997;6(3):116-21. DOI: 10.1111/j.1600-0625.1997.tb00157.x
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1600-0625.1997.tb00157.x>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9226133/>
40. Poljšak B, Dahmane R. Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatology research and practice*. 2012;2012. DOI: 10.1155/2012/135206
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/dr/2012/135206/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22505880/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3299230/>
41. Urbanska M, Nowak G, Florek E. [Cigarette smoking and its influence on skin aging]. *Przegląd lekarski*. 2012;69(10):1111-4. [in Polish]
View at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23421102/#:~:text=Cigarette%20smoke%20causes%20unfavorable%20skin,smoking%2070%20year%20old%20adults>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/23421102>
42. Yin L, Morita A, Tsuji T. Alterations of extracellular matrix induced by tobacco smoke extract. *Arch Dermatol Res*. 2000;292(4):188-94. doi: 10.1007/s004030050476
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s004030050476>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10836612/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/10836612>
43. Miyachi Y. The cumulative effect of continual oxidative stress to the skin and cutaneous aging. *Cutaneous aging*. 1988;435-47.
44. Jackson S. Skin as an organ of protection. In: *Dermatology in general medicine*. 1993;1:241-53.
View at: <https://accessmedicine.mhmedical.com/Content.aspx?bookId=392§ionId=41138745>
<https://www.amazon.com/Dermatology-General-Medicine-Thomas-Fitzpatrick/dp/0070212074>
45. Ghadially R, Brown BE, Sequeira-Martin SM, Feingold KR, Elias PM. The aged epidermal permeability barrier. Structural, functional, and lipid biochemical abnormalities in humans and a senescent murine model. *The Journal of clinical investigation*. 1995;95(5):2281-90. DOI: 10.1172/JCI117919.
View at: Publisher Site: <https://www.jci.org/articles/view/117919>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7738193/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC295841/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/11913735>
46. Wang YN, Fang H, Wang HM, Chen HC. [Effect of chronic exposure to ultraviolet on skin barrier function]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban = Journal of Zhejiang University Medical sciences*. 2010;39(5):517-22. [in Chinese]
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20936728/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/20936728>
47. Di Cerbo A, Laurino C, Palmieri B, Iannitti T. A dietary supplement improves facial photoaging and skin sebum, hydration and tonicity modulating serum fibronectin, neutrophil elastase 2, hyaluronic acid and carbonylated proteins. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2015;144:94-103. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2014.12.025
View at: Publisher Site: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101113441400390X?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25732262/>
48. Tokudome Y, Takahashi Y. Antioxidants Inhibit Subsequent Lipid Production via Sebaceous Gland Cell Differentiation. *J Dermat Cosmetol*. 2017;1(3):00015. DOI: 10.15406/jdc.2017.01.00015
View at: Publisher Site: <https://medcraveonline.com/JDC/antioxidants-inhibit-subsequent-lipid-production-via-sebaceous-gland-cell-differentiation.html>
49. García-González A, Herrera-Abarca J, Ochoa JL. Effect of superoxide dismutase from bovine erythrocytes on different activity parameters in adjuvant-induced arthritis. *Archives of medical research*. 1999;30(2):132-7. doi: 10.1016/s0188-0128(98)00025-6.
View at: Publisher Site: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0188012898000256?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10372448/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/10372448>

Article history:

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

Received: 19.02.2021

Revision requested: 26.02.2021

Revision received: 09.03.2021

Accepted: 29.03.2021

Published: 31.03.2021

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРИЙОМУ ПЕРОРАЛЬНОЇ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗИ (СОД) НА ЗАГАЛЬНИЙ АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС (ЗАС), ТРАНСЕПІДЕРМАЛЬНУ ВТРАТУ ВОДИ (ТЕВВ) І КОНЦЕНТРАЦІЮ СЕКРЕТУ САЛЬНИХ ЗАЛОЗ У ФОТОСТАРІЮЧІЙ ШКІРІ

Хайруддин Джавад, Деві Ангграїні

Медичний факультет, Університет Хасануддін, Макаassar, Індонезія

duddindjawad@gmail.com

Актуальність. Старіння – це прогресуючий процес зниження функцій і можливостей органів, в тому числі шкіри. Фотостаріння – це зовнішнє старіння, яке в основному відбувається через вплив ультрафіолету (УФ). Ефективність перорального прийому антиоксиданту супероксиддисмутази (СОД) при передчасному старінні (або фотостарінні) на сьогоднішній день не відома.

Мета: оцінити ефективність прийому СОД для загального антиоксидантного статусу (ЗАС), гідратації шкіри (ТЕВВ) і концентрації шкірного сала при передчасному фотостарінні шкіри.

Методи. Це дослідження є науковим проектом клінічного дослідження з однією групою досліджуваних, яких тестували до- і після УФ-опромінення. Всі досліджувані піддавалися УФ-опромінення протягом приблизно 3-4 годин. Всі досліджувані підписали інформовану згоду і пройшли відповідну співбесіду. Фотостаріння діагностувалося в клінічному аспекті трьома дерматологами відповідно до класифікації по Глогув тип II. Зокрема, оцінювалися динамічні зморшки, пальпуючий кератоз, видимі старечі пігментні плями і мімічна складка. СОД 250 МО давали всім досліджуваним два рази на день протягом 60 днів. Лабораторні дослідження ЗАС, ТЕВВ і концентрації секрету сальних залоз проводилися до і після впливу УФ.

Результати. У дослідження було включено 25 осіб з типом шкіри 4 по Фітцпатріку. Серед них були 14 чоловіків і 11 жінок, 20 осіб у віці 30-40 років і 5 осіб у віці 25-29 років. Чотирнадцять (56%) з 18 досліджуваних із групи з низьким ЗАС мали нормальний ЗАС після прийому СОД. Тест МакНемара показав значне збільшення значення ЗАС до і після прийому СОД ($p < 0,05$). Вимірювання ТЕВВ в області щоки показало, що 9 з 10 досліджуваних з «strained» групи мали нормальне значення ТЕВВ після прийому СОД, в той час як всі 3 досліджуваних з «critical» групи мали нормальне значення ТЕВВ. Вимірювання ТЕВВ в області чола показало, що у 7 досліджуваних з «strained» групи ТЕВВ мав нормальне значення. Себуметрія в області чола показала, що з 17 досліджуваних, з групи із сухою шкірою, 14 (56%) – мали нормальну шкіру, 1 (4%) – жирну, а у 2 – шкіра залишалася сухою після прийому СОД протягом 60 днів. Себуметрія в області щоки показала, що у всіх досліджуваних, з групи із сухою шкірою, шкіра ставала нормальною після прийому СОД.

Висновок. Після прийому СОД протягом 60 днів значно збільшилося значення ЗАС, зменшилася ТЕВВ і покращилося вологоутримання шкіри

Ключові слова: супероксиддисмутаза (СОД), загальний антиоксидантний статус (ЗАС), трансепідермальна втрата води (ТЕВВ), секрет сальних залоз

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИЕМА ПЕРОРАЛЬНОЙ СУПЕРОКСИДИСМУТАЗЫ (СОД) НА ОБЩИЙ АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС (ОАС), ТРАНСЭПИДЕРМАЛЬНУЮ ПОТЕРЮ ВОДЫ (ТЭПВ) И КОНЦЕНТРАЦИЮ СЕКРЕТА САЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ В ФОТОСТАРЕЮЩЕЙ КОЖЕ

Хайруддин Джавад, Деві Ангграїні

Медицинский факультет, Университет Хасануддина, Макаassar, Индонезия

duddindjawad@gmail.com

Актуальность. Старение – это прогрессирующий процесс снижения функций и возможностей органов, в том числе кожи. Фотостарение – это внешнее старение, которое в основном происходит из-за воздействия ультрафиолета (УФ). Эффективность перорального приема антиоксиданта супероксиддисмутази (СОД) при преждевременном старении (или фотостарении) на сегодняшний день не известна.

Цель: оценить эффективность приема СОД для общего антиоксидантного статуса (ОАС), гидратации кожи (ТЭПВ) и концентрации кожного сала при преждевременном фотостарении кожи.

Методы. Это исследование представляет собой научный проект клинического исследования с одной группой испытуемых, которых тестировали до и после УФ-облучения. Все испытуемые подвергались УФ-облучению в течение примерно 3-4 часов. Все испытуемые подписали информированное согласие и прошли соответствующее собеседование. Фотостарение диагностировалось в клиническом аспекте тремя дерматологами в соответствии с классификацией по Глогув тип II. В частности, оценивались динамические морщины, пальпируемый кератоз, видимые старческие пигментные пятна и мимическая складка. СОД 250 МЕ давали всем испытуемым два раза в день в течение 60 дней. Лабораторные исследования ОАС, ТЭПВ и концентрации секрета сальных желез проводились до и после воздействия УФ.

Результаты. В исследование было включено 25 человек с типом кожи 4 по Фитцпатрику. Среди них были 14 мужчин и 11 женщин, 20 человек в возрасте 30-40 лет и 5 человек в возрасте 25-29 лет. Четырнадцать (56%) из 18 испытуемых из группы с низким ОАС имели нормальный ОАС после приема СОД. Тест МакНемара показал значительное увеличение значения ОАС до и после приема СОД ($p < 0,05$). Измерение ТЭПВ в области щеки показало, что 9 из 10 испытуемых из «strained» группы имели нормальное значение ТЭПВ после приема СОД, в то время как все 3 испытуемых из «critical» группы имели нормальное значе-

ние ТЭПВ. Измерение ТЭПВ в области лба показало, что у 7 испытуемых из «strained» группы ТЭПВ имел нормальное значение. Себуметрия в области лба показала, что из 17 испытуемых, из группы с сухой кожей, 14 (56%) – имели нормальную кожу, 1 (4%) – жирную, а у 2 – кожа оставалась сухой после приема СОД в течение 60 дней. Себуметрия в области щеки показала, что у всех испытуемых, из группы с сухой кожей, кожа становилась нормальной после приема СОД.

Вывод. После приема СОД в течение 60 дней значительно увеличилось значение ОАС, уменьшилась ТЭПВ и улучшилось влагосодержание кожи.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза (СОД), общий антиоксидантный статус (ОАС), трансэпидермальная потеря воды (ТЭПВ), секрет сальных желез

THE CONDITION OF THE HARD TISSUES OF THE TEETH IN CHILDREN WITH ACUTE FORMS OF LEUKEMIA

Lehenchuk O.V. <https://orcid.org/0000-0001-6901-3932>

Plyska O.N. <https://orcid.org/0000-0002-3843-5582>

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

oksana101117@gmail.com

Relevance. Children with oncohematological pathology have a high level of dental diseases, since the use of high doses of cytostatic drugs leads to damage to the hard tissues of the teeth. In recent years, the number of children with acute leukemia has increased in Ukraine from 2.5 to 4.1 cases per 100,000 children. In recent years, the number of children with acute leukemia has increased in Ukraine from 2.5 to 4.1 cases per 100,000 child population.

Objective: to study the indicators of the intensity of caries of temporary and permanent teeth in children with acute forms of leukemia: lymphoblastic and myeloblastic.

Materials and methods. Clinically examined 98 children aged 2-18 years, with acute forms of leukemia. The examined children were divided into groups: the first group – 61 children with acute lymphoblastic leukemia, and the second – 37 children with acute myeloblastic leukemia. Served as control 63 practically healthy children. The analysis of the structure of the constituent elements of the indicators of the intensity of decay teeth caries (df) in children 2-5 years old and caries of permanent teeth (DMF) in children 6-18 years old was performed. The constituent elements of the cf indicator are “d” – carious teeth that are subject to treatment, “f” – filled teeth. The constituent elements of the DMF indicator are “D” – carious teeth that are subject to treatment; “F” – filled teeth; “M” – extracted teeth.

Results. When studying the intensity of caries of temporary and permanent teeth in children with acute lymphoblastic leukemia, it was found that in children 2-5 years old, cf is equal to 6.64 affected teeth per child. In this case, the “d” element was 75.30%, compared with the control group of children, where the “f” element was 45.28%. Element “f” was 24.6%, and in the control group it was significantly higher and was equal to 54.92%. In children with acute lymphoblastic leukemia 6-18 years old, the CFE is 5.34 teeth. At the same time, the “D” element was 53.13%, and in the control group – 11.06%. Element “f” was 44.24%, in the control group – 85.9%. Element “M” in the main group was equal to 2.63%.

When studying the intensity of caries in temporary and permanent teeth in children with acute myeloid leukemia, it was determined that in children 2-5 years of age, cf is equal to 6.25 affected teeth per child. In this case, the “d” element was 80.64%, in comparison with the control group, where the “d” element was 45.28%. Element “f” was 19.36%, and in the control group it was significantly higher and equal to 54.92%. In children 6-18 years old, the CFE is 5.53 teeth. At the same time, the element “d” in the main group was 41.5%, and in the control group – 11.06%. Element “f” was equal to 57.8%, in the control group – 85.94%. Element “M” in the main group was equal to 0.6%.

Conclusion. Children with acute forms of leukemia have high rates of caries intensity in temporary and permanent teeth.

Keywords: children, caries, intensity, acute lymphoblastic, myeloblastic leukemia.

Relevance. Studies conducted by domestic scientists confirm the high prevalence of major dental diseases among children in Ukraine. This is especially true in children with oncohematological pathology. Among the nosologies included in this group, acute leukemias are one of the common diseases of hematopoietic tissue that occur in childhood. In recent years, the number of children with acute leukemia in Ukraine has increased from 2.5 to 4.1 cases per 100,000 children [3, 7]. Acute myeloblastic leukemia, which accounts for 15-20% of all forms of leukemia, most often affects children aged 12-14 years and older. Acute lymphoblastic leukemia in 75% is diagnosed at the age of 2 to 5 years and at the age of 15 to 18 years. Most often, according to statistics, boys get sick. The use of high doses of cytostatic drugs leads not only to lesions of the oral mucosa, as indicated by numerous studies, but also to the damage to the hard tissues of the teeth [1; 2; 4; 5; 8; 9].

Objective: to study the intensity of caries of temporary and permanent teeth in children with acute forms of leukemia: lymphoblastic and myeloblastic.

MATERIALS AND METHODS

The study involved 98 children aged 2 to 18 years with acute forms of leukemia, who were treated in the Department of Pediatric Oncohematology of the Kiev Regional Oncological Dispensary. The examined sick children were divided into groups. The first group – 61 children with acute lymphoblastic leukemia, of them from 2 to 5 years old – 17 children, from 6 to 18 years old – 44 children. The second group – 37 children with acute myeloid leukemia, of which from 2 to 5 years old – 7 children, from 6 to 18 years old – 30 children. The control group consisted of 63 practically healthy children, who, in terms of age and sex, coincided with the main group of the surveyed: of them 12 children aged 2-5 years, 51 children aged 6-18 years. Children of the control group

did not suffer from chronic diseases and rarely (1-2 times a year) suffered from ARI. They went to the Dental Clinic of the National Medical University for oral hygiene. The analysis of the structure of the constituent elements of indicators of the intensity of caries of deciduous teeth (dp) in children 2-5 years old and permanent teeth (DMF) in children 6-18 years old was performed. The constituent elements of the cf-index are: «d» – carious teeth to be treated; «f» – filled teeth. The components of the DMF index are: «d» – carious teeth to be treated; «f» – filled teeth; «M» – extracted teeth.

RESULTS AND DISCUSSION

When studying the intensity of caries of temporary and permanent teeth in children with acute lymphoblastic leukemia, it was determined that in the group of children from 2 to 5 years of age cf-index was equal to 6.64 affected teeth per child. In the group of children from 6 to 18 years, the intensity of dental caries (DMF) was equal to 5.34 teeth. Analysis of the structure of the components of the intensity of dental caries (df) in children 2-5 years is presented in table 1.

These tables show that in children from 2 to 5 years with acute lymphoblastic leukemia, the element «c» was 75.30%, compared with the control group of children, where the element «c» was equal to 45.28%. The element «f» was in children from 2 to 5 years – 24.6%, and in the control group was much higher and equal to 54.92%.

Analysis of the structure of the constituent elements of the cf-index of temporary teeth shows that in this group of children the element «d» prevails over the element «f».

In children 6-18 years of the main group, the element «C» was equal to 53.13%, and in the control group – 11.06%. Element «F» was 44.24%, in the control group – 85.9%. Element «M» in the main group was equal to 2.63% (Table 2).

Thus, in children with acute lymphoblastic leukemia, the intensity of the component «D» prevails over the component «F», which indicates a lack of treatment and prevention work among this group of children.

Children aged 2-5 years with acute myeloblastic leukemia were equal to 6.25 affected teeth per child. In children 6-18 years DMF was 5.53 teeth. Thus, the intensity of caries in children with acute myeloblastic leukemia, according to WHO criteria, was high in all age groups.

When studying the clinical course of caries, a decompensated form of acute caries with a significant amount of secondary caries in sealed teeth and a rapid complication of caries, especially in temporary teeth, was more often observed. An atypical placement of carious cavities in temporary teeth in children has been established. They were located not only on the masticatory and proximal surfaces, but also on the humps and cervical areas.

When examining the condition of the teeth in children 2-5 years with acute myeloblastic leukemia, it was found that the element «c» was 80.64%, compared with the compared control group of children, where the element «d» was 45.28%. The element «f» was 19.36%, and in the control group – much higher and equal to 54.92%. That is, in this group of children the element «d» prevails over the element «f» (Table 3).

Table 1

The structure of the constituent elements of the intensity of caries of temporary teeth in children 2-5 years with acute lymphoblastic leukemia

Group	df	d	%	f	%
Patients with acute lymphoblastic leukemia (n = 17)	6,64 ± 0,2 *	5,0 ± 0,11**	75,30	1,64 ± 0,21	24,6
Healthy (n = 12)	2,3 ± 0,4 *	1,0 ± 0,3*	45,28	1,3 ± 0,65	54,92

*Notes for tables 1 and 3. The difference is significant: *p < 0,01; **p < 0,05; df – the number of affected temporary teeth; «d» – decayed tooth; «f» – filled teeth.*

Table 2

The structure of the constituent elements of the intensity of caries of permanent teeth in children 6-18 years old with acute lymphoblastic leukemia

Group	DMF	D	%	F	%	M	%
Patients with acute lymphoblastic leukemia (n = 44)	4,95 ± 0,3	2,63 ± 0,02**	53,13	2,19 ± 0,1*	44,24	0,12± 0,1*	2,63
Healthy (n = 51)	2,56 ± 0,22	0,36 ± 0,11*	11,06	2,20 ± 0,22	85,94	0	0

*Notes for tables 2 and 4. The difference is significant: *p < 0,01; **p < 0,05; DMF – the number of affected permanent teeth; «d» – decayed tooth; «F» – filled teeth; «M» – missing removed teeth.*

Table 3

The structure of the constituent elements of the intensity of caries of temporary teeth in children 2-5 years with acute myeloblastic leukemia

Group	cf	c	%	f	%
Patients with acute myeloblastic leukemia (n = 7)	6,25±0,3 *	5,0±0,22**	80,64	1,2±0,21	19,36
Healthy (n = 12)	2,3±0,4 *	1,0±0,3*	45,28	1,3±0,65	54,92

Table 4

The structure of the constituent elements of the intensity of caries of permanent teeth in children 6-18 years old with acute myeloblastic leukemia

Group	DMF	D	%	F	%	M	%
Patients with acute myeloblastic leukemia (n = 30)	5,53 ± 0,4	2,3 ± 0,2	41,5	3,2 ± 0,01**	57,8	0,03 ± 0,02	0,6
Healthy (n = 51)	2,56 ± 0,22	0,36 ± 0,11*	11,06	2,20 ± 0,22	85,94	0	0

According to the generally accepted clonal theory of leukemogenesis, the pathogenesis of the development of acute leukemias is likely to begin in the perinatal period. That is, the time at which the number of leukemic clones reaches the number at which leukemia is clinically manifested, is from one year to ten (average 3.5 years) [6]. This coincides with the intensive bookmarking and mineralization of hard tissues of both temporary and permanent teeth in children. This is an important factor in the formation of caries-favorable enamel in this contingent of children.

Analysis of the structure of the constituent elements of DMF teeth in children 6-18 years shows that the element "d" in the main group was 41.5%, and in the control group – 11.06%. Element "f" was 57.8%, in the control group – 85.94%. Element "M" in the main group was equal to 0.6% (Table 4).

Comparative analysis showed that component «E» is significantly higher in children with acute lymphoblastic leukemia, compared with the group of children with acute myeloblastic leukemia – 2.63% vs. 0.6% (Tables 2, 4).

CONCLUSIONS

At children with acute forms of leukemias high indicators of intensity of caries of temporary and permanent teeth are established.

REFERENCES

1. Boris S.P., Popruzhenko T.V., Krasko O.V. [Risk factors for the development of chemotherapeutic oral mucositis in children and adolescents associated with the characteristics of the patient's body and the underlying disease]. *Modern dentistry*. 2016; 4: 66-70. [in Russian] View at: URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/fak-tory-riska-razvitiya-himioterapevticheskogo-oralno-go-mukozita-u-detey-i-podrostkov-svyazannye-s-osobennostyami-organizma-patsientov>

Elibrary: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27639476>

Google Scholar: <https://scholar.google.com/citations?user=AOthSKEAAAAJ&hl=en>

2. Kaskova L.F., Vashchenko I.Yu., Yanko N.V., Karpenko O.O., Korotich N.N. [The prevalence and intensity of caries in children with hodgkin's disease, it was examined at different periods of them manifestation]. *Ukrainian Dental Almanac*. 2015; 3:42-6. [in Ukrainian] View at: URL: <http://elib.umsa.edu.ua/handle/umsa/2978>
- Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/poshirenist-ta-intensivnist-karioznogo-protse-su-v-ditey-hvorih-na-limfogradulematoz-obst-zhenih-u-rizni-periodi-perebigu-osnovnoy>
3. Klitinska O.V. [Analysis of manifestations of leukemia in the oral cavity in children and adolescents]. *Ukraine. Health of the nation*. 2016;4(40):28-31. [in Ukrainian] View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uzn_2016_4_6
4. Obukhov Yu.A., Zhukovskaya E.V., Karelin A.F. Radiation caries in patients receiving cancer therapy: a review of the literature and their own clinical observations. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2018;5(4):40-50. doi: 10.17650/2311-1267-2018-5-4-40-50. [in Russian] View at: Publisher Site: <https://doi.org/10.17650/2311-1267-2018-5-4-40-50>
- Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/luchevoy-karies-u-patsientov-poluchayuschiy-terapiyu-po-povodu-novoobrazovaniy-obzor-literatury-i-sobstvennye-klinicheskie>
5. Popruzhenko T.V. Dental care for children with acute lymphoblastic leukemia in an outpatient setting at the stages of diagnosis, planning antitumor therapy and after its completion. *Modern dentistry*. 2018; 2: 51-7. [in Russian] View at: Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/stomatologicheskaya-pomosch-detyams-os-trym-limfoblastnym-leykozom-v-ambulatornyh-usloviyah-na-etapah-diagnostiki-zabolevaniya>

- Elibrary: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=35290279>PubMed:
6. Shabalov N.P. Childhood diseases. Vol. 1. 8th edition, 2017. 880 p. [in Russian]
View at: URL: http://kingmed.info/knigi/Pediatrica/book_4499/Detskie_bolezni_Tom_1_8-e_izdanie-Shabalov_NP-2017-pdf
 7. Khotimskaya Yu.V. General characteristics of oral mucosa lesions in children with acute leukemia. Modern dentistry. 2016; 1: 80-3. [in Russian]
View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ss_2016_1_20
Google Scholar: <https://scholar.google.com.ua/citations?user=7hE3SNQAAAAJ&hl=ru>
 8. Bowen J. [et al]. Mucositis Study Group of the International Association of Supportive Care in Cancer / International Society of Oral Oncology (MASCC/ISOO). The pathogenesis of mucositis: updated perspectives and emerging targets. Support Care Cancer. 2019; 27(10): 4023-33. doi: 10.1007/s00520-019-04893-z.
View at: Publisher Site Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00520-019-04893-z>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31286231/>
 9. Ritwik P., Chrisentery-Singleton T.E. Oral and dental considerations in pediatric cancers. Cancer Metastasis Rev. 2020 Mar 01; 39(1):43-53 doi: 10.1007/s10555-020-09842-5
View at: Publisher Site Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10555-020-09842-5>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31989506/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/31989506>

Article history
Received: 09.03.2021
Revision requested: 14.03.2021
Revision received: 19.03.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

СТАН ТВЕРДИХ ТКАНИН ЗУБІВ У ДІТЕЙ З ГОСТРИМИ ФОРМАМИ ЛЕЙКЕМІЙ

Легенчук О.В., Плиська О.М.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ, Україна

oksana101117@gmail.com

Актуальність. У дітей з онкогематологічною патологією спостерігається високий рівень стоматологічних захворювань, так як застосування високих доз цитостатичних препаратів призводить до ураження твердих тканин зубів. В останні роки кількість дітей, хворих на гострі форми лейкемії, зросла в Україні від 2,5 до 4,1 випадків на 100000 дитячого населення.

Мета: вивчити показники інтенсивності карієсу тимчасових та постійних зубів у дітей з гострими формами лейкемії: лімфобластною та мієлобластною.

Матеріали та методи. Клінічно обстежено 98 дітей, у віці 2-18 років, з гострими формами лейкемії. Обстежені діти були розподілені на групи: перша група – 61 дитина з гострою лімфобластною лейкемією та друга – 37 дітей з гострою мієлобластною лейкемією. Контролем слугували 63 практично здорові дитини. Проводили аналіз структури складових елементів показників інтенсивності карієсу тимчасових зубів (кп) у дітей 2-5 років та карієсу постійних зубів (КПВ) у дітей 6-18 років. Складовими елементами показника кп є «к» – каріозні зуби, які підлягають лікуванню, «п» – пломбовані зуби. Складовими елементами показника КПВ є «К» – каріозні зуби, які підлягають лікуванню; «П» – пломбовані зуби; «В» – видалені зуби.

Результати. При вивченні інтенсивності карієсу тимчасових та постійних зубів у дітей з гострою лімфобластною лейкемією встановлено, що у дітей 2-5 років кп дорівнював 6,64 уражених зубів на одну дитину. При цьому елемент «к» складав 75,30 %, в порівнянні з контрольною групою дітей, де елемент «к» дорівнював 45,28 %. Елемент «п» складав 24,6%, а в контрольній групі значно вищий і дорівнював 54,92%. У дітей з гострою лімфобластною лейкемією 6-18 років КПВ дорівнював 5,34 зубів. При цьому елемент «К» дорівнював 53,13 %, а в контрольній групі – 11,06%. Елемент «П» складав 44,24 %, в контрольній групі – 85,9%. Елемент «В» у основній групі дорівнював 2,63%.

При вивченні інтенсивності карієсу тимчасових та постійних зубів у дітей з гострою мієлобластною лейкемією визначено, що у дітей 2-5 років кп дорівнював 6,25 уражених зубів на одну дитину. При цьому елемент «к» складав 80,64 %, в порівнянні з контрольною групою, де елемент «к» дорівнював 45,28 %. Елемент «п» складав 19,36 %, а в контрольній групі був значно вищий і дорівнював 54,92 %. У дітей 6-18 років КПВ дорівнював 5,53 зубів. При цьому елемент «К» основної групи становив 41,5 %, а в контрольній групі – 11,06 %. Елемент «П» дорівнював 57,8 %, в контрольній групі – 85,94 %. Елемент «В» у основній групі дорівнював 0,6%.

Висновок. У дітей з гострими формами лейкемії встановлені високі показники інтенсивності карієсу тимчасових і постійних зубів.

Ключові слова: діти, карієс, інтенсивність, гостра лейкемія лімфобластна та мієлобластна.

СОСТОЯНИЕ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ ФОРМАМИ ЛЕЙКЕМИЙ

*Легенчук О.В. Плиска Е.Н.**Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина*

oksana101117@gmail.com

Актуальность. У детей с онкогематологической патологией наблюдается высокий уровень стоматологических заболеваний, так как применение высоких доз цитостатических препаратов приводит к поражению твердых тканей зубов. В последние годы количество детей, больных острой формой лейкемии, выросло в Украине от 2,5 до 4,1 случаев на 100000 детского населения.

Цель: изучить показатели интенсивности кариеса временных и постоянных зубов у детей с острыми формами лейкемии: лимфобластной и миелобластной.

Материалы и методы. Клинически обследовано 98 детей в возрасте 2-18 лет, с острыми формами лейкемии. Обследованные дети были распределены на группы: первая группа – 61 ребенок с острой лимфобластной лейкемией, и вторая – 37 детей с острой миелобластной лейкемией. Контролем служили 63 практически здоровых ребенка. Проводили анализ структуры составляющих элементов показателей интенсивности кариеса временных зубов (кп) у детей 2-5 лет и кариеса постоянных зубов (КПУ) у детей 6-18 лет. Составными элементами показателя кп являются «к» – кариозные зубы, которые подлежат лечению, «п» – пломбированные зубы. Составными элементами показателя КПУ являются «К» – кариозные зубы, которые подлежат лечению; «П» – пломбированные зубы; «У» – удаленные зубы.

Результаты. При изучении интенсивности кариеса временных и постоянных зубов у детей с острой лимфобластной лейкемией установлено, что у детей 2-5 лет кп равен 6,64 пораженных зубов на одного ребенка. При этом элемент «к» составлял 75,30 %, по сравнению с контрольной группой детей, где элемент «к» равнялся 45,28 %. Элемент «п» составлял 24,6 %, а в контрольной группе – значительно выше и равнялся 54,92 %. У детей с острой лимфобластной лейкемией 6-18 лет КПУ равен 5,34 зубов. При этом элемент «К» равнялся 53,13 %, а в контрольной группе – 11,06 %. Элемент «П» составлял 44,24%, в контрольной группе – 85,9 %. Элемент «У» в основной группе был равен 2,63 %.

При изучении интенсивности кариеса временных и постоянных зубов у детей с острой миелобластной лейкемией определено, что у детей 2-5 лет кп равен 6,25 пораженных зубов на одного ребенка. При этом элемент «к» составлял 80,64 %, в сравнении с контрольной группой, где элемент «к» равнялся 45,28 %. Элемент «п» составлял 19,36 %, а в контрольной группе был значительно выше и равнялся 54,92 %. У детей 6-18 лет КПУ равен 5,53 зубов. При этом элемент «К» основной группы составил 41,5 %, а в контрольной группе – 11,06%. Элемент «П» был равен 57,8 %, в контрольной группе – 85,94 %. Элемент «У» в основной группе был равен 0,6 %.

Вывод. У детей с острыми формами лейкемии установлены высокие показатели интенсивности кариеса временных и постоянных зубов.

Ключевые слова: дети, кариес, интенсивность, острая лейкемия лимфобластная и миелобластная.

BODY SCRUB VIRGIN COCONUT OIL, COFFEE GROUNDS AND CARBON ACTIVE COCONUT SHELL AS A MOISTURIZER AND SKIN BRIGHTENING

Putri Desi Eka <https://orcid.org/0000-0001-6423-2693>

Djamil Ratna <https://orcid.org/0000-0002-1863-5366>

Faizatul Faizatul <https://orcid.org/0000-0001-5761-1118>

Faculty of Pharmacy, University Pancasila, South Jakarta, Indonesia

desiekaputri.audrii1@gmail.com

Relevance. Virgin Coconut Oil (VCO) contains a lot of medium chain fatty acids, combined with coffee grounds (*Coffea Arabica* Linn.) and activated carbon (Activated carbon coconut *Nucifera* L) into a preparation that can moisturize and brighten the skin.

Objective. The purpose of this study was to make cosmetic cleansing preparations containing three natural ingredients.

Methods. This study evaluate the organoleptic body scrub preparations, homogeneity, dispensability, and pH. The ingredients were tested using in-vivo and clinical irritation along with the effectiveness of the preparation (moisture and brightness).

Results. Organoleptic testing and homogeneity were confirmed to have dark black color, the distinctive smell of coffee, homogeneity, spreadability in the range of 4 cm, and the pH was at a safe pH for the skin so that irritation results also did not show edema and erythema both in-vivo divided into 3 groups (n = 3) and clinically (n = 30). In addition, this body scrub provides moisture and brightness to the skin for 2 months of use, p <0.05.

Conclusions. VCO body scrub preparations, coffee grounds and activated carbon are preparations that have the potential to be cosmetic cleansers.

Keywords: body scrub, virgin coconut oil, coffee grounds, activated carbon

Relevance. Body scrub is a body care product that can be used to maintain healthy skin. The basic ingredients for body scrubs are always the same, namely as a cleanser [1]. The basic ingredients for body scrubs are usually made from synthetics and also natural ingredients derived from herbal plants [2]. Herbal plants are one that can be used as safe pharmaceutical preparations and as cosmetics that can maintain healthy skin. One of the Indonesian herbal plants that can be used is Virgin Coconut Oil (VCO), the content of saturated fatty acids in VCO can be used as a cosmetic form because it can moisturize the skin and VCO also has a high SPF content [3]. In addition, other natural ingredients such as coffee grounds can also be used as cosmetic ingredients in skin care, because coffee has a high antioxidant content [4]. Coffee grounds also have a distinctive aroma and rough texture so they can be used to remove dead skin cells [5]. Coffee grounds also have a long life shelf for 9 months [6]. Another natural ingredient that can be used is activated charcoal which has detoxification activities [7]. The body scrubs made in this study were in the form of creams. The cream dosage has physical stability which can increase the effectiveness of active ingredients on the skin, easy to use, and easy to distribute thus consumers prefer to use cream body scrubs rather than other form of body scrub.

Objective

The purpose of this study was to make cosmetic cleansing preparations containing three natural ingredi-

Table 1

Formulation Body scrub VCO, ground coffee and activated carbon

Formulation	Body Scrub Formula		
	F1	F2	F3
Virgin Coconut Oil (VCO)	5	15	25
Activated Carbon	1	3	5
Coffee Grounds	9	7	5
Cera de lano® (mix of cetearyl alcohol and catearar 33)	14	14	14
Phenoxy Ethanol	0.8	0.8	0.8
Propylene Glycol	10	10	10
Liquid Paraffin	5	5	5
Cetyl Alcohol	2	2	2
Corn Starch	6	6	6
Tween 80	3	3	3
Aquadest ad	100	100	100

ents, including virgin coconut oil, coffee grounds, and carbon active coconut shell.

MATERIALS AND METHODS

VCO and activated charcoal were obtained from Galenika (Central Java, Indonesia). Coffee grounds were obtained from several coffee shops in the Balaraja area (Tangerang, Indonesia). Cetearyl alcohol and catearate (Cera de lano) Phenoxy ethanol, propylene glycol, liquid

paraffin, cetyl alcohol, Corn starch, Tween 80, Aquadest were obtained from Brataco (Jakarta, Indonesia).

Preparation of Body Scrub. Making body scrubs using the basic ingredient of Cera de lano, using additives phenoxy ethanol, propylene glycol, liquid paraffin, cetyl alcohol, tween.

The procedure for making a body scrub is as follows: Cera de lano is mixed over a water bath (70 ° C) and mixed until it is homogeneous with other ingredients. For each formula (Formula I, Formula II and Formula III) add VCO with aquadest (70 ° C) and mix until a white cream base is formed. Enter coffee grounds, activated charcoal and corn starch then stir using a homogenizer for about 5 minutes until a body scrub is formed.

Evaluation of Body Scrub

Organoleptic Test. Organoleptic testing is done visually with the changes in shape, color and smell of body scrub preparations. The test was carried out for 8 weeks with examination time intervals, namely at week 0,2,4,6 and 8 at 25 ° C.

Homogeneity Test. To clarify the homogeneity of body scrub preparations, homogeneity testing was carried out using a microscope (Olympus CX23) with magnification (magnification of 40 ×). A number of samples are smeared on the glass preparation then the top is covered with a glass preparation. Sample testing is done by taking 3 parts of the body scrub preparation, namely top, middle, bottom [8].

Spreadability. Samples (0.5 g) of each formula were placed in the centre of the Petri plate, then the Petri plate was placed on top. A load of 150 g is given for 1 minute at 25 ° C, after which the diameter of the spread is measured. The diameter of the dispersive power should be in the range 3-5 cm [9].

pH Evaluation. The pH evaluation was carried out using a pH meter (Mettler Toledo S220). The sample is made in 1%, i.e. 1 gram sample is dissolved in 100 mL aquadest. The acceptable pH is in the range 4.5-6.5 [9].

Effectiveness of Body Scrub. The humidity tester uses the Dermalab combo (Cortex) tool. Volunteers with the inclusion criteria were 17-45 years old, had healthy skin (n = 30). While the exclusion criteria for pregnant and breastfeeding women, and / or those currently using drugs that can affect the condition of the skin. Apply the body scrub sample twice a week. Determination of skin moisture content and melanin index was carried out at 0, 1 and 2 months after use.

Pre-Clinic and Clinical Evaluation of Body Scrub

Evaluation In-Vivo of Irritation. In vivo test for irritation (edema and erythema) used albino rabbit (n = 3) for each treatment group. The test animals were shaved and then given body scrub samples with their respective formulas (F1, F2 and F3). The sample given is smeared with non-reactive gauze. The degree of irritation was measured from 1, 24, 48 and 72 hours. Measurements were made by giving a score of (0) negative reactions;

(1) a little irritation; (2) bordered edge irritation; (3) moderate drainage ($\pm$ 1mm rising edge; (4) severe irritation (rising edge $>$ $\pm$ 1mm and extending beyond the curb). The score depends on the severity of the skin reactions produced [10].

Evaluation of Clinical Irritation. Clinical irritation testing was performed on the forearm with an area of 2.5 x 2.5 cm (n = 30) for volunteers. The criteria for volunteers are 17-45 years, healthy, have no history of allergies. After the basting is done, it is left closed for 24 hours, then the observation is carried out for 72 hours to see the reaction that occurs. The irritation reaction is characterized by redness, itching and swelling. Measurements were made by giving a score of (0) negative reactions; (1) redness; (2) hives; (3) swelling [11].

RESULTS AND DISCUSSION

Preparation and Evaluation Body Scrub. A body scrub has been successfully made with a cream base. Organoleptic evaluation by conducting visual observations (Figure 1a), shows that the body scrub sample containing VCO, coffee grounds and activated carbon has a dark black color, a very sharp distinctive smell of coffee. Homogeneity testing has been carried out under a microscope (Figure 1b). The results of the observations showed that the results of each sample were homogeneous with no lumps. Homogeneity is influenced by the forming ingredients between the water base and the oil base forming a good cream mass. The dispersion test was successfully carried out for 1, 14 and 28 days (Figure 1c). The diameter of the F1, F2, and F3 spreadability tests met the requirements because they were in the 3-5 cm range and there was no significant difference between samples $p > 0.05$. Good spreadability is obtained because the ingredients that make up cream of cetyl alcohol are fatty alcohols which form a white solid, such as wax, and catereat is an oil / water (O / W) base which can form a dense and oily mass like butter. Body scrubs have an acceptable pH and are a pH range that is safe for the skin (Figure 1d).

In tests 1, 14 and 28 days, it was found that there was no significant change in pH in body scrub samples during the storage period $p > 0.05$. The pH is safe because catereat base material can form a stable pH in cosmetic preparations. In addition, the content of activated carbon has a water content of 15% which can increase the pH in the skin pH range (4.5-6.5). Evaluation of body scrub preparations obtained good results also because VCO has the stability for 48 days, where this stability affects homogeneity / appearance, changes in color, odour, consistency, pH and viscosity [12].

Pre-Clinic and Clinical Evaluation of Body Scrub. Clarifying the results of the in-vivo irritation test on albino rabbits (n = 3). The procedure carried out has been approved by the Health Research Ethics Committee, Muhammadiyah University Prof. Dr. Hamka, with ethi-

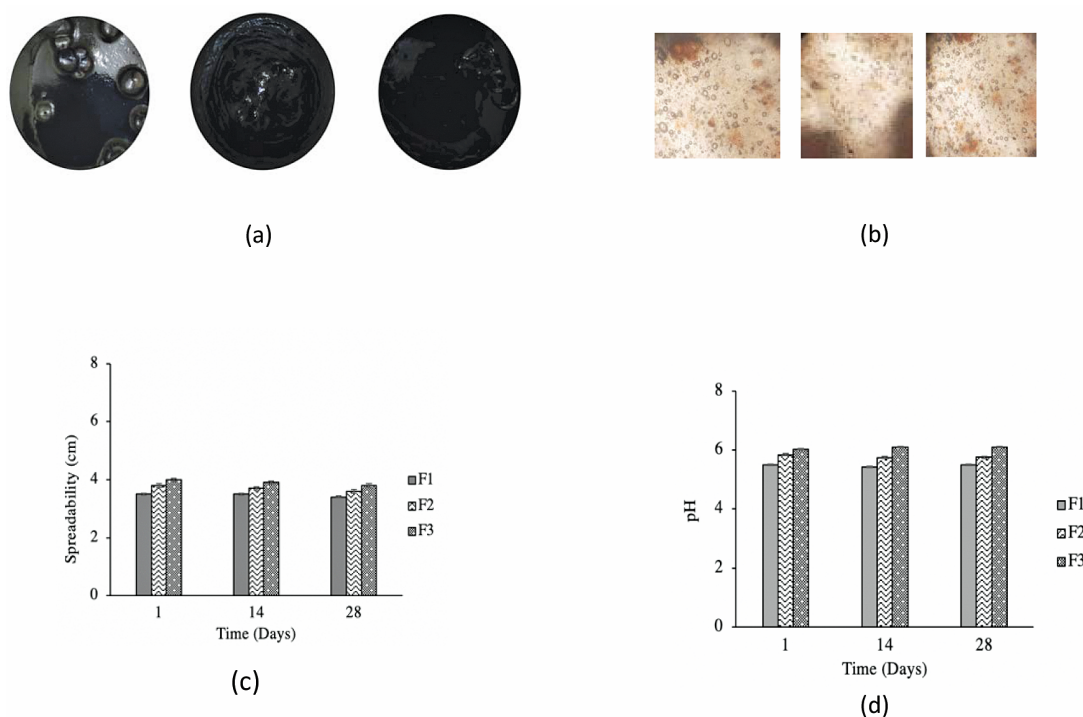


Fig. 1. Evaluation of body scrub of VCO, grounded coffee and activated carbon (F1, F2 and F3): (a) Organoleptic test; (b) Homogeneity test; (c) Spreadability test; (d) pH

cal approval number 01 / 19.11 / 0240. The rabbits were divided into four test groups (Figure 2a). In testing with groups F1, F2 and F3 and observations made for 1, 24, 28 and 72 hours, it was shown that body scrubs were safe to use and did not cause edema or erythema in rabbits [13].

Clinical testing of human skin, using three test groups (n = 30). Observation on volunteers was carried out for 72 hours (Figure 2b). The results of clinical testing using body scrubs F1, F2 and F3 confirmed negative reactions to the skin of the volunteers, meaning that no irritation occurred by testing the body scrub samples. Body scrub preparations with VCO active substances, coffee grounds and activated carbon are safe for use on human skin [14]. The absence of irritation to the skin is also influenced by the physical and chemical properties of VCO which is very good for use as a moisturizer on the skin. Coconut dregs which have the ability as an antioxidants are also able to absorb into the skin layer, antioxidants can neutralize free radicals [15], [16] watermelon rind extract, and combinations, also in lotion dosage form. Methods: The antioxidant activity of each extract and their combinations were tested with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil method and formulated into a lotion dosage forms. Evaluation of the lotion dosage forms, including organoleptic, homogeneity, pH, viscosity and rheology, microbiology, acute dermal irritation test, as well as the antioxidant activity test. Results: Antioxidant activity test on the extract showed inhibitory concentration 50% (IC50).

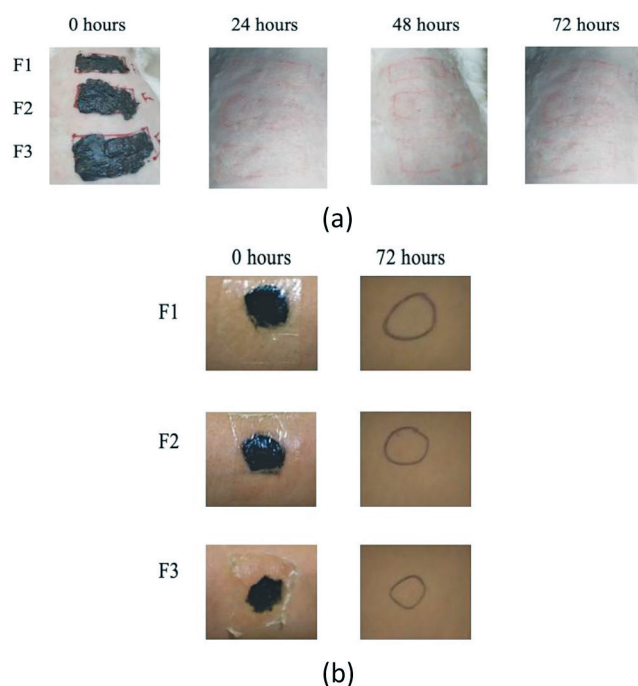


Fig. 2. Pre-Clinic and Clinical Evaluation of Body Scrub of VCO, ground coffee and activated Carbon (F1, F2 and F3): (a) Evaluation In-vivo of Irritation; (b) Evaluation of Clinical Irritation

Effectiveness of Body Scrub. The effectiveness of VCO body scrubs, coffee grounds and activated carbon by performing moisture testing (Figure 3a).

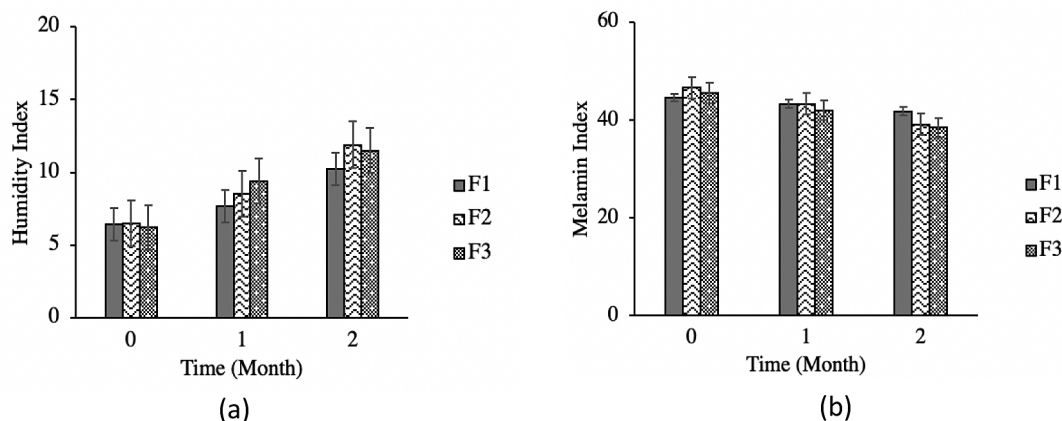


Fig. 3. Effectiveness of VCO Body Scrub, ground coffee and activated Carbon (F1, F2 and F3): (a) Humidity Index; (b) Melamine Index

Observations were made before being given treatment and after being given treatment for 0, 1 and 2 months. Body scrubs used by volunteers for 2 months routinely increase moisture on the skin with a significance value of $p < 0.05$. While the statistical results of *kruskal wallis* data, there is no significant difference between formulas $p > 0.05$. The results of brightness testing on VCO body scrubs, coffee grounds and activated carbon on the skin of volunteers (Figure 3b). The results showed that there was a significant difference between the time intervals of observation $p < 0.05$. Comparative data between the three formulas did not have a significant difference in the increase in skin brightness in the volunteer's $p > 0.05$. The effectiveness of body scrub is supported by the presence of antioxidant abilities in coffee grounds which can increase collagen productivity in the skin. The antioxidant content in skin care products, particularly vitamin C, has been shown to be beneficial in reducing melanin pigmentation in the skin.

CONCLUSION

VCO body scrub, coffee grounds and activated carbon with various formulas F1, F2 and F3 were successfully carried out with several evaluations confirmed, the difference in concentration in each formula did not affect the evaluation results of body scrubs. The pH of each formula is still in the safe range for the skin. The pH results were correlated with in-vivo and clinical irritation testing carried out for 72 hours without edema and erythema in the skin of the volunteers. The results of testing the effectiveness of moisture and brightness on VCO body scrubs, coffee grounds and activated carbon, the longer the skin is used, the more moisturized it is and the increased brightness of the volunteer skin.

ACKNOWLEDGMENT

- Especially for my husband Muji Harja and Ananda Mufida Hazimah Amudria (Audri) who have given love, attention, encouragement, permission, bless-

ings and have accompanied them during their education until completing this thesis.

- Both parents and parents-in-law with great love and blessings so that the author can achieve this goal.
- All parties who have helped the completion of this thesis who cannot be named individually.
- Thank you to those who have contributed to the research and writing of this journal.

REFERENCES

- Ulfa M., Khairi N., Maryam F. Formulasi dan Evaluasi Fisik Krim Body Scrub dari Ekstrak Teh Hitam (*Camellia sinensis*), Variasi Konsentrasi Emulgator Span-Tween 60. *J. Farm.* 2016; 4(4): 179-185. DOI: 10.24252/v4i4.2257
View at: Publisher Site: http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/jurnal_farmasi/article/view/2257
URL: http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/jurnal_farmasi/article/viewFile/2257/2192
- Ervina A., Santoso J., Prasetyo B.F., Setyaningsih I., Tarmam K. Formulation and characterization of body scrub using marine alga *Halimeda macroloba*, chitosan and konjac flour. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 2020; 414:012004. DOI: 10.1088/1755-1315/414/1/012004
View at: Publisher Site: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/414/1/012004>
- Mu'awanah I.A.U., Setiaji B., Syoufian A. Pengaruh Konsentrasi Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Stabilitas Emulsi Kosmetik dan Nilai Sun Protection Factor (SPF). *J. Math. Nat. Sci.* 2014; 24(1):1-10.
View at: Publisher Site: <https://jurnal.ugm.ac.id/bimipa/article/view/13840>
URL: <https://media.neliti.com/media/publications/242420-pengaruh-konsentrasi-virgin-coconut-oil-49a0486e.pdf>
- Hertina T.N. Dwiyantri S. Pemanfaatan Ampas Kedelai Putih dan Ampas Kopi dengan Perbandingan Berbeda dalam Pembuatan Lulur Traditional untuk Perawatan Tubuh. *J. Tata Rias.* 2013; 2(3): 70-77.
View at: Publisher Site: <https://jurnalmahasiswa.unesa.ac.id/index.php/jurnal-tata-rias/article/view/4064>

- URL: <https://jurnalmahasiswa.unesa.ac.id/index.php/jurnal-tata-rias/article/view/4064/2027>
5. Desyntia D. Sehat Dengan Secangkir Kopi. Surabaya, 2012.
 6. Ningsi S., Nonci F.Y.N., Sam R. Formulasi Sediaan Lulur Krim Ampas Kedelai Putih dan Ampas Kopi Arabika. J. Farm. 2015; 3(1):1-4. DOI: 10.24252/v3i1.2173 View at: Publisher Site: http://journal.uin-alaudind.ac.id/index.php/jurnal_farmasi/article/view/2173 URL: http://journal.uin-alaudind.ac.id/index.php/jurnal_farmasi/article/download/2173/2097
 7. Lestari U., Farid F., Sari P.M. Formulasi dan Uji Sifat Fisik Lulur Body Scrub Arang Aktif Dari Cangkang Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq) Sebagai Detoksifikasi. J. Sains dan Teknol. Farm. 2017; 19(1). View at: Publisher Site: <https://garuda.ristekbrin.go.id/documents/detail/621600>
 8. Zhang J.-T., Huang S.-W., Zhuo R.-X. Preparation and Characterization of Novel Temperature Sensitive Poly(N-isopropylacrylamide-co-acryloyl beta-cyclodextrin) Hydrogels with Fast Shrinking Kinetics. Macromol. Chem. Phys. 2004 Jan; 205(1): 107-13. DOI: 10.1002/macp.200350080 View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/macp.200350080> URL: <http://www.paper.edu.cn/scholar/showpdf/MUT2ANzIMTD0gx1h>
 9. Fitriani L., Afifah, Ismed F., Bakhtiar A. Hydrogel Formulation of Usnic Acid and Antibacterial Activity Test Against *Propionibacterium acne*. Sci. Pharm. 2018 Dec; 87(1): 1. DOI: 10.3390/scipharm87010001 View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/2218-0532/87/1/1> URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/c864/b9370025071d6927ada2daf3906215e79dd.pdf>
 10. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan tentang Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara In Vivo. Jakarta, 2014. 18 p. View at: URL: <https://jdih.pom.go.id/download/product/701/13/2014>
 11. Tranggono R.I. Ilmu Pengetahuan Kosmetik, Djajadisas. PT Gramedia Pusat Utama, 2007.
 12. Padmadisastra Y., Widodo S., Syaugi A. Pembuatan Basis Krim VCO (Virgin Coconut Oil) Menggunakan Microwave Oven. IOCD International Symposium and Seminar of Indonesian Medicinal Plants XXXI, Surabaya 9-11 April 2007. 2007. p.1-11 View at: URL: http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2009/06/efektivitas_emulgator_vco.pdf <https://docplayer.info/54766253-Pembuatan-basis-krim-vco-virgin-coconut-oil-menggunakan-microwave-oven.html>
 13. Widiarti S.I.M. Formulasi Dan Uji Sifat Fisik Lulur Serbuk Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn) Dan Serbuk Kopi (*Coffea Arabica* Linn) Untuk Perawatan Tubuh Formulation. J. Kesehat. Al-Irsyad. 2017; X(1). View at: Publisher Site: <https://jka.stikesalirsyadclp.ac.id/index.php/jka/article/view/67>
 14. Hui S.B.L., Susilohadi G. Structure analysis of health-related indicators of the elderly at home with a focus on subjective health. Procedia - Soc. Behav. Sci. 2014; 2(1)
 15. Alamsyah N., Djamil R., Rahmat D. Antioxidant activity of combination banana peel (*Musa paradisiaca*) and watermelon rind (*Citrullus vulgaris*) extract in lotion dosage form. Asian J. Pharm. Clin. Res. 2016 Dec; 9(9): 300. DOI: 10.22159/ajpcr.2016.v9s3.14926 View at: Publisher Site: <https://innovareacademics.in/journals/index.php/ajpcr/article/view/14926>
 16. Djamil R., Wahyudi P., Wahono S.M.H. Antioxidant Activity Flavonoid from *Anredera Cordifolia* (TEN) Steenis Leaves. Int. Res. J. Pharm. 2012; 3(9).

Article history

Received: 01.03.2021

Revision requested: 10.03.2021

Revision received: 20.03.2021

Accepted: 29.03.2021

Published: 31.03.2021

СКРАБ ДЛЯ ТІЛА З КОКОСОВИМ МАСЛОМ ПЕРШОГО ВІДЖИМУ, КАВОВОЮ ГУЩЕЮ І АКТИВОВАНИМ ВУГІЛЛЯМ ІЗ ШКАРАЛУПИ КОКОСА ЯК ЗВОЛОЖУВАЧ І ОСВІТЛЮВАЧ ШКІРИ

Путрі Д.Є., Джаміл Р., Файзатун Ф.

Фармацевтичний факультет, Університет Панкасіла, Південна Джакарта, Індонезія

desiekaputri.audrii1@gmail.com

Актуальність. На сьогоднішній день залишається невивченою можливість застосовувати для зволоження і освітлення шкіри препарат, що містить кокосове масло першого віджиму (VCO), з великим вмістом середньоланцюгових жирних кислот, в поєднанні з кавовою гущею (*Coffea Arabica* Linn.) і активованим вугіллям (кокосове активоване вугілля *Nucifera* L.).

Мета: приготувати косметичні очищаючі препарати, що містять три натуральних інгредієнти.

Методи. У цьому дослідженні оцінювали органолептичні склади скрабів для тіла, однорідність, що дозується, і рН. Інгредієнти були протестовані *in vivo*. Оцінювали ефективність препарату (вологість і яскравість).

Результати. Органолептичні випробування і гомогенність підтвердили наявність темно-чорного кольору, характерного запаху кави, однорідності, розтікання в діапазоні 4 см. рН був безпечним для шкіри, застосування скрабу в клінічних випробуваннях (n = 30) не викликало ні набряку, ні еритеми. Крім того, цей скраб для тіла забезпечує зволоження і чистоту шкіри протягом 2 місяців використання, p < 0,05.

Висновок. Скраб для тіла, що містить VCO, кавову гущу і активоване вугілля – це препарат, який може бути косметичним засобом, що очищає.

Ключові слова: скраб для тіла, кокосове масло першого віджиму, кавова гуща, активоване вугілля.

СКРАБ ДЛЯ ТЕЛА С КОКОСОВЫМ МАСЛОМ ПЕРВОГО ОТЖИМА, КОФЕЙНОЙ ГУЩЕЙ И АКТИВИРОВАННЫМ УГЛЕМ ИЗ СКОРЛУПЫ КОКОСА КАК УВЛАЖНИТЕЛЬ И ОТБЕЛИВАТЕЛЬ КОЖИ

Путри Д.Е., Джамил Р., Файзатун Ф.

Фармацевтический факультет, Университет Панкасила, Южная Джакарта, Индонезия

desiekaputri.audrii1@gmail.com

Актуальность. На сегодняшний день остаётся неизученной возможность применять для увлажнения и осветления кожи препарат, содержащий кокосовое масло первого отжима (VCO), с большим содержанием среднецепочечных жирных кислот, в сочетании с кофейной гущей (*Coffea Arabica* Linn.) и активированным углем (кокосовый активированный уголь *Nucifera* L).

Цель: приготовить косметические очищающие препараты, содержащие три натуральных ингредиента.

Методы. В этом исследовании оценивали органолептические составы скрабов для тела, однородность, дозируемость и pH. Ингредиенты были протестированы *in vivo*. Оценивали эффективность препарата (влажность и яркость).

Результаты. Органолептические испытания и гомогенность подтвердили наличие темно-черного цвета, характерного запаха кофе, однородности, растекаемости в диапазоне 4 см. pH был безопасным для кожи, применение скраба в клинических испытаниях ($n = 30$) не вызывало ни отёка, ни эритемы. Кроме того, этот скраб для тела обеспечивает увлажнение и чистоту кожи в течение 2 месяцев использования, $p < 0,05$.

Вывод. Скраб для тела, содержащий VCO, кофейную гущу и активированный уголь – это препарат, который может быть косметическим очищающим средством.

Ключевые слова: скраб для тела, кокосовое масло первого отжима, кофейная гуща, активированный уголь.

ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНИЙ ЕФЕКТ ЕКСТРАКТУ МАКЛЮРИ ТА ШЛЯХИ ЙОГО РЕАЛІЗАЦІЇ

¹Зайченко Г.В. <https://orcid.org/0000-0001-8111-0436>

²Тацький Ю.О. <https://orcid.org/0000-0002-3305-3075>

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

²Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

anna.zajchenko@gmail.com

Актуальність. Є експериментальні дані про простатопротекторну активність олійного екстракту маклюри помаранчевої (ОЕМ) у щурів з сульпірид індукованою гіперплазією передміхурової залози (СППЗ), у яких нормалізувався простатичний індекс, покращилися біохімічні показники та морфофункціональний стан простати. Однак механізм реалізації корегуючого впливу залишається невідомим.

Мета: вивчити внесок гормонопосередкованих сигнальних шляхів у механізм фармакологічної дії олійного екстракту маклюри у формі ректальних супозиторіїв при експериментальній гіперплазії простати у щурів.

Матеріали та методи. На 60 щурах обох статей досліджена гостра токсичність діючої речовини при внутрішньошлунковому введенні OEM (доза за діючою речовиною 5000 мг/кг, n=12) або супозиторної маси з OEM (доза за діючою речовиною 1500 мг/кг, n=12). При ректальному введенні токсичність досліджували при введенні OEM (доза за діючою речовиною 1000 мг/кг, n=12) або супозиторної маси (доза за діючою речовиною 300 мг/кг, n=12). Групу інтактного контролю склали 12 щурів. Модель СППЗ відтворювали у самців щурів (вік 9-11 міс.) масою 330-360 г (n=18) введенням сульпіриду (40 мг/кг, внутрішньочеревно, 30 діб). Щури контрольної групи (n=6) отримували 0,5 мл 0,9 % NaCl, внутрішньом'язово. З 31 по 51 добу експерименту щурам у лікувальному режимі вводили супозиторії з OEM (380 мг/кг, n=12) або препарат порівняння Простаплант форте (35 мг/кг, n=6) один раз на добу. Імуноферментним методом у сироватці крові визначали вміст тестостерону (Тс) та Е2, рівень 5 α -дигідротестостерону (5 α -ДГТ). У гомогенаті простати досліджували вміст 5 α -редуктази (5 α R), а також концентрацію андрогенних (AR) та естрогенних (ER α) рецепторів.

Результати. При введенні максимально можливих кількостей OEM токсичного впливу на стан внутрішніх органів не встановлено, не було й жодного випадку загибелі тварини. Застосування супозиторіїв з OEM у щурів із СППЗ нормалізувало вміст статевих гормонів. Виявлено суттєве інгібування активності 5 α R, зменшення вмісту AR, зростання вмісту ER α . У групі з введенням Простаплант форте спостерігали аналогічні покращення. Зроблено припущення, що реалізація антипроліферативного ефекту OEM відбувається за рахунок коекспресії ER α та ER β , що призводить до блокування здатності ER α реагувати на ліганд (естроген) та до зменшення клітинної проліферації.

Висновки. 1. Екстракт маклюри відноситься до IV класу токсичності при внутрішньошлунковому та ректальному введенні (малотоксичні речовини). 2. Використання супозиторіїв з OEM у щурів з СППЗ нормалізує функціональну активність передміхурової залози, що підтверджується нормалізацією вмісту статевих гормонів. 3. Екстракт маклюри на рівні клітин залози інгібує активність 5 α -редуктази, зменшує вміст рецепторів андрогенів та відношення тестостерон/рецептори андрогенів, подібно дії лікарських засобів інгібіторів 5 α -редуктази. 4. Фітосупозиторії з екстрактом маклюри у дозі 380 мг/кг не поступаються за ефективністю простатопротекторної дії препарату порівняння Простаплант форте дозою 35 мг/кг.

Ключові слова: сульпірид, гіперплазія простати, щури, статеві гормони, 5 α -редуктаза, рецептори андрогенів, рецептори естрогенів.

Актуальність. Доброякісна гіперплазія передміхурової залози (ДГПЗ) – найпоширеніше багатофакторне ендокринне захворювання чоловіків старшої вікової групи. Передміхурова залоза (ПЗ) відіграє важливу роль у складних перетвореннях статевих стероїдів, для чого у залозі зонально експресуються майже всі ферменти їх метаболізму. Завдяки цьому відбувається перетворення андростендіону та тестостерону (Тс) або в андрогени при дії 5 α -редуктази (5 α R) – у 5 α -андростандіон та 5 α -дигідротестостерон (5 α -ДГТ) або при дії ароматази – в естрогени (естрон та естрадіол, Е2) [1]. Гормональний ефект реалізується через відповідні андрогенні (AR) або естрогенні рецептори (ER), роль яких у розвитку ДГПЗ розглядається поруч зі змінами рівнів стероїдів та активності ферментів їхнього метаболізму,

що спостерігається при цьому захворюванні. Натепер не існує однозначного погляду щодо механізмів розвитку ДГПЗ, але більшість дослідників такими вважають порушення балансу між андрогенами та естрогенами при старінні (переважно зниження вмісту Тс), зміни активності 5 α R з надмірним утворенням 5 α -ДГТ, який сприяє проліферації епітелію з супутнім дисбалансом між апоптозом та проліферацією. Повідомляють про більш значну активність 5 α R у гіперплазованій простаті та меншу активність 3 α -гідроксистероїддегідрогенази та 3 β -гідроксистероїддегідрогенази, які катаболізують ДГТ, у порівнянні з нормальними тканинами залози. Участь естрогенів у розвитку ДГПЗ розглядають: а) як безпосереднього індуктора гіперплазії, б) як інгібітора секреції гонадотропінів з подальшим зменшенням синтезу Тс

ячком, в) як синергіста 5 α -ДГТ при гіперплазії стромы, та г) як безпосереднього регулятора через ER у клітинах ПЗ [1-3]. Щодо ролі рецепторів стероїдів, то значних відмінностей у рівнях експресії AR, які експресуються переважно в епітелії протоків при ДГПЗ, не виявлено. Більше уваги дослідники приділяють двом формам рецепторів естрогенів ER α та ER β , які натеper вважають функціонально різними. Експресію ER α знаходять переважно, але не виключно, в стромі нормальної та гіперплазованої простати [4, 5]. Знайдено, що ER α стимулюють ріст клітин простати людини *in vivo*, і ці рецептори вважають відповідальними за проліферативний ефект E2 [6]. Іншому рецептору – ER β , який експресується здебільше у епітелії протоків, – приписують захисну роль через антиканцерогенний та проапоптотичний ефект [6, 7]. Але існує багато суперечливих результатів щодо точної ролі ER β у ПЗ, тому це питання потребує додаткових досліджень, особливо враховуючи можливість використання модуляторів цих рецепторів як фармакологічних агентів.

Хоча натеper єдиним патогенетичним засобом лікування ДГПЗ є інгібітори 5 α R, які зменшують концентрацію ДГТ та об'єм ПЗ, повідомляють про ряд побічних ефектів при їх застосуванні, серед яких статевая дисфункція, імпотенція, розлад еякуляції та зниження лібідо, гінекомастія [1]. Тому зберігається актуальність пошуку нових засобів лікування цієї патології з комплексною дією на організм. Перспективним об'єктом для фармакології є супліддя Маклюри помаранчової (*Maclura pomifera* (raf) Schneid.), багаті на біологічно активні речовини. Серед них флавоноїдні сполуки: флаванони сканденон, аурикулазін та найбільше – кемпферол (до 1,2 %), ізофлавоноїди, що має вітамін Р-подібну активність, а також поміферин [8-11]. Крім того, виявлено токоферолу α -; γ -; β - та δ -токоферол, полісахариди [12], вільні амінокислоти [13]. Домінування ліпофільних сполук, переважно фітостеринів та ізофлавоноів, визначило доцільність розробки олійного екстракту маклюри (ОЕМ). Раніше була показана простатопротекторна активність ОЕМ у щурів з сульпірид індукованою гіперплазією ПЗ (СГПЗ), у яких нормалізувався простатичний індекс, покращилися біохімічні показники та морфофункціональний стан простати [14]. Однак механізм реалізації корегуючого впливу залишається невідомим.

Мета: вивчити внесок гормонопосередкованих сигнальних шляхів фармакологічної дії олійного екстракту маклюри у формі ректальних супозиторіїв при експериментальній гіперплазії передміхурової залози у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

На 60 щурах обох статей досліджена гостра токсичність діючої речовини при внутрішньошлунковому введенні ОЕМ (доза за діючою речовиною 5000 мг/кг) (n=12) або супозиторної маси з ОЕМ (доза за діючою речовиною 1500 мг/кг) (n=12). При ректальному введенні токсичність досліджували при введенні ОЕМ (доза за діючою речовиною 1000 мг/кг) (n=12) або супозиторної маси (доза за діючою речовиною 300 мг/кг) (n=12). Групу інтактного контролю склали 12 щурів.

Моделю сульпірид індукованої гіперплазії ПЗ (СГПЗ) відтворювали у статевозрілих самців щурів (вік 9-11 міс., маса 330-360 г) (n=18) введенням сульпіриду (40 мг/кг, внутрішньочеревинно, 30 діб, Еглоніл, Sanofi-Aventis, Франція). Щури контрольної групи (n=6) отримували 0,5 мл 0,9 % NaCl, внутрішньом'язово.

З 31 по 51 добу експерименту щурам у лікувальному режимі вводили або супозиторії з ОЕМ (дозою 380 мг/кг) (n=12), або препарат порівняння Простаплант форте (дозою 35 мг/кг) (n=6) один раз на добу.

Знеживлення тварин на 52 добу проводили шляхом швидкої декапітації, що відповідає вимогам «Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2001).

Імуноферментним методом у сироватці крові визначали вміст Тс та Е2 наборами Тестостерон-ІФА та Естрадіол-ІФА (ХЕМА, Росія). Також був визначений рівень ДГТ тест-набором Dihydrotestosterone IFA (DRG ELISA, Фінляндія). У гомогенаті простати досліджували вміст 5 α R за допомогою тест-набору SRD5A2 ELISA Kit» (Aviva Systems Biology, США), а також концентрацію андрогенних (AR) та естрогенних (ER α) рецепторів, використовуючи тест-набори «Ar ELISA Kit (Rat)» та «Esr1 ELISA Kit (Rat)» (Aviva Systems Biology, США).

Перевірку нульової гіпотези про відсутність різниці між групами проводили із застосуванням U-критерію Манна-Уїтні. Різницю між групами вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У щурів обох статей при введенні максимально можливих кількостей ОЕМ та супозиторної маси з ОЕМ токсичного впливу на стан внутрішніх органів не встановлено, не було й жодного випадку загибелі тварини. Ці дані дозволили віднести досліджувані речовини до IV класу токсичності при внутрішньошлунковому та ректальному введенні, тобто, до класу малотоксичних речовин [15].

Результати визначень основних статевих гормонів наведено на рисунку 1. Так, моделювання СГПЗ призвело до суттєвих та достовірних гормональних змін. На тлі зростання концентрації Е2 (на 68,9 %) і зниження Тс (на 63,4 %) на 78,9 % зменшилося співвідношення Тс/Е2. При цьому на 94,1 % зросла концентрація ДГТ, який переважно відповідає за розвиток проліферативних процесів у простаті.

Відбувається суттєве зростання (майже вшестеро) співвідношення ДГТ/Тс.

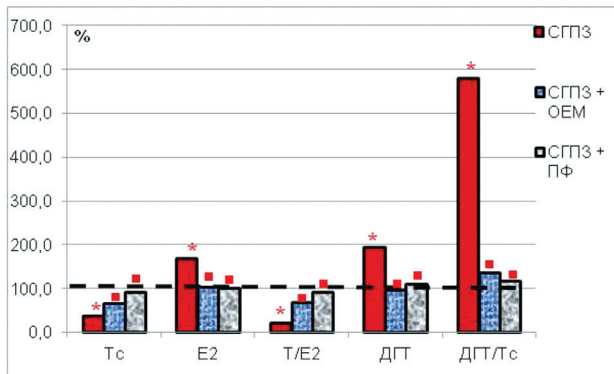


Рис. 1. Рівень гормонів у сироватці крові щурів з сульпірид індукованою гіперплазією передміхурової залози (СППЗ) після введення супозиторіїв з OEM (група СППЗ+ОЕМ) або Простаплант форте (група СППЗ+ПП). За 100 % прийняті результати інтактних тварин. Тс – тестостерон, нмоль/л; Е2 – естрадіол, пмоль/л; ДГТ – дигідротестостерон, нмоль/л. * – вірогідні відмінності від контролю, $p < 0,05$; ■ – вірогідні відмінності від групи СППЗ, $p < 0,05$.

Застосування у лікувальному режимі супозиторіїв з OEM призвело до збільшення вмісту Тс, нормалізації вмісту ДГТ на тлі зменшення Е2. Це відбулося на збільшенні співвідношення Тс/Е2 у порівнянні з контрольною групою, тобто, відбувається нормалізація гормонального фону. У групі з введенням Простаплант форте (група СППЗ+ПП) спостерігали аналогічні покращення. За ефективністю впливу на гормональні показники супозиторії з OEM не поступалися препарату порівняння.

Дослідження внутрішньоклітинних змін виявило суттєве зростання вмісту 5αR у щурів з СППЗ (на 54 %) та вмісту рецепторів: AR (на 329 %) та ERα (на 93 %) (рис. 2).

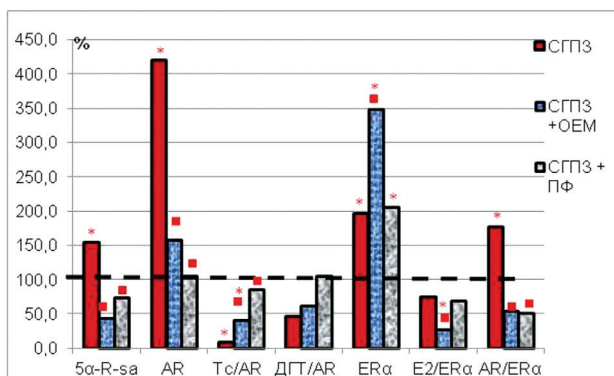


Рис. 2. Показники клітинних змін у простаті щурів з сульпірид індукованою гіперплазією залози (СППЗ) після введення супозиторіїв з OEM (група СППЗ+ОЕМ) або Простаплант форте (група СППЗ+ПП). За 100 % прийняті результати інтактних тварин. 5αR – 5α-редуктаза, нг/мл; AR – рецептори андрогенів, нг/мл; нмоль/л; ER – рецептори естрогенів, нг/мл; Тс – тестостерон, нмоль/л; ДГТ – дигідротестостерон, пмоль/л; Е2 – естрадіол, пмоль/л. * – вірогідні відмінності відносно контролю, $p < 0,05$; ■ – вірогідні відмінності відносно групи СППЗ, $p < 0,05$.

Зростання концентрації AR у цій експериментальній моделі, скоріше за все, індуковано підвищеним вмістом пролактину, що відбувається при введенні сульпіриду [16]. При таких змінах зменшується коефіцієнт Тс/AR (на 88,2 %), хоча величина ДГТ/AR суттєво не змінюється, можливо, за рахунок зростання й вмісту цього метаболіту Тс. Співвідношення AR/ER зросло на 72,7 % за рахунок більшого зростання вмісту саме AR. Це може свідчити про підвищення чутливості залози до андрогенів, бо відомо, що гіперестрогенія підвищує кількість або щільність AR у простаті [17].

Тому позитивним є факт того, що застосування супозиторіїв з OEM у щурів з СППЗ призводить до нормалізації усіх досліджених гормональних показників, а на клітинному рівні інгібує активність 5αR, зменшує вміст AR та відношення Тс/AR подібно дії лікарських засобів-інгібіторів 5α-редуктази.

Щодо виявленого при застосуванні OEM у ПЗ підвищення вмісту ERα, то це може бути пов'язане з підвищеною концентрацією Е2 та ефектом up regulation щодо ERα у простаті щурів [18]. Можна думати, що нормалізація вмісту Тс, у свою чергу, сприяла підвищенню експресії ERβ за таким же механізмом, як це показано у прямих експериментах [18]. А завдяки наявності в OEM фітоестрогенів, селективних до цього типу рецепторів, також слід очікувати активації ERβ [19]. Вірогідна коекспресія ERα та ERβ може призводити до блокування здатності ERα реагувати на ліганд (естроген) та зменшення клітинної проліферації [20]. Такий ефект ERβ обумовлений прямим зв'язуванням рецептора з генами регуляції апоптозу та клітинного циклу [21]. Тобто, можливо, що саме за таким механізмом (пригнічення активності ERα при коекспресії обох типів рецепторів) реалізується антипроліферативна дія OEM у простаті при моделюванні СППЗ.

У групі, що отримувала Простаплант форте, спостерігалися аналогічні зміни, як відносно гормонального тла, так і показників внутрішньоклітинних змін. Але у цій групі не відмічено такої надекспресії ERα та зростання співвідношення Е2/ERα й Тс/AR. Скоріше за все, такі відмінності пов'язані з різним складом OEM та ПП, а саме – наявністю комплексу макро- та мікроелементів (цинк, селен, мідь, залізо), вітамінів, ресвератрола, ізофлавонов та ін., що забезпечує значний антиоксидантний ефект та перешкоджає надмірному ПОЛ, до продуктів якого дуже чутлива ПЗ.

ВИСНОВКИ

1. Олійний екстракт маклюри та супозиторна маса з екстрактом маклюри відносяться до IV класу токсичності при внутрішньошлунковому та ректальному введенні (малотоксичні речовини).
2. Використання супозиторіїв з екстрактом маклюри у щурів з гіперплазією простати нормалізує функ-

ціональну активність передміхурової залози, що підтверджується нормалізацією вмісту статевих гормонів.

3. Екстракт маклюри у щурів з гіперплазією простати на рівні клітин залози інгібує активність 5 α -редуктази, зменшує вміст рецепторів андрогенів та відношення тестостерон/рецептори андрогенів, подібно дії лікарських засобів інгібіторів 5 α -редуктази.
4. Фітосупозиторії з екстрактом маклюри у дозі 380 мг/кг не поступалися за ефективністю простатопротекторної дії препарату порівняння Простаплант форте дозою 35 мг/кг.

REFERENCES

1. Ho C.K.M., Habib F.K. Estrogen and androgen signaling in the pathogenesis of BPH. *Nature Reviews Urology*. 2011 Jan; 8(1): 29-32. DOI: 10.1038/nrurol.2010.207
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/nrurol.2010.207>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21228820/#:~:text=Estrogens%20and%20androgens%20have%20both,permissive%20role%20in%20BPH%20pathogenesis.>
2. Thomas JA, Keenan EJ. Effects of estrogen on the prostate. *Journal of Andrology*. 1994;15(2): 97-9.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8056642/>
3. Setlur S.R., Mertz K.D., Hoshida Y. et al. Estrogen-dependent signaling in a molecularly distinct subclass of aggressive prostate cancer. *J. National Cancer Institute*. 2008 Jun 4; 100(11): 815-25. DOI:10.1093/jnci/djn150
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/jnci/article/100/11/815/896334>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18505969/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3073404/>
4. Tsurusaki T, Aoki D, Kanetake H, Inoue S, Muramatsu M, Hishikawa Y, Koji T. Zone-dependent expression of estrogen receptors alpha and beta in human benign prostatic hyperplasia. *J. Clin. Endo. Metab*. 2003 Mar; 88(3): 1333-40. DOI: 10.1210/jc.2002-021015
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/jcem/article/88/3/1333/2845467>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12629127/>
5. Zhang Z, Duan L, Du X, Ma H, Park I, Lee C, Zhang J, Shi J. The proliferative effect of estradiol on human prostate stromal cells is mediated through activation of ERK. *Prostate*. 2008 Apr; 68(5): 508-16. DOI: 10.1002/pros.20722
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pros.20722>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18213633/>
6. Attia D.M., Ederveen A.G. Opposing roles of ERa and ERb in the genesis and progression of adenocarcinoma in the rat ventral prostate. *Prostate*. 2012 Jun 15; 72(9): 1013-22. DOI:10.1002/pros.21507
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pros.21507>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22025007/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/22025007>
7. Nakajima Y, Akaogi K, Suzuki T, Osakabe A, Yamaguchi C, Sunahara N, Ishida J, Kako K, Ogawa S, Fujimura T, Homma Y, Fukamizu A, Murayama A, Kimura K, Inoue S, Yanagisawa J. Estrogen regulates tumor growth through a nonclassical pathway that includes the transcription factors ERb and KLF5. *Science Signaling*. 2011 Apr 12;4(168):ra22. DOI:10.1126/scisignal.2001551.
View at: Publisher Site: <https://stke.sciencemag.org/content/4/168/ra22>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21487105/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/21487105>
8. El-Sohly H.N., Joshi A., Li X.-C., Ross S.A. Flavonoids from maclura tinctoria. *Phytochemistry*. 1999 Sep; 52(1): 141-5. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00126-0
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942299001260?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10466226/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/10466226>
9. Marek J., Veselá D., Lisková M., Zemlicka M. Pomiferin. *Acta Crystallogr. C*. 2003 Mar.; 59(Pt 3):o127-8. DOI: 10.1107/S0108270103002300
View at: Publisher Site: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper/S0108270103002300>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12711784/>
Onlinelibrary: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1107/S0108270103002300>
10. Kupeli E., Orhan I., Tokar G., Yesilada E. Anti-inflammatory and antinociceptive potential of Maclura pomifera (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major iso-flavonoids, scandenone and auricularin. *J. Ethnopharmacol*. 2006 Sep 19; 107(2): 169-74. DOI: 10.1016/j.jep.2006.02.021
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874106001231?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16600547/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/16600547>
11. Ananikyan G.S., Ananikyan V.V., Eribekyan M.I., Mnat-sakanyan V.A., Panosyan G.A. [Osain and pomiferin are biologically active substances of orange makliura fruit tincture]. *International Journal of Applied and Basic Research*. 2015; 9(4): 673-5. [in Russian]
View at: Publisher Site: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=7571>
12. Orynbasarova K.K. [Analysis of the polysaccharide composition of orange maclura fruits]. *KazNU Bulletin, Chemical Series*. 2011; 62(62): 52-3. [in Russian]
13. Makhatov B.K., Orynbasarova K.K., Torlanova B.O., Kudaibergenova S.M., Kislichenko V.S. Amino acids of orange maclura fruit. *Bulletin of Pharmacy*. 2011;

- 1: 46-8. [in Russian]
View at: Elibrary: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22888001>
URL: https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2015/04/VF_2011_-1_46-48.pdf
14. Korotkov V.A., Zaichenko A.V., Tatsky Yu.A., Kukhtenko A.S., Andriyanenkov A.V. Prostatoprotective activity of suppositories with maclura extract in a model of sulphiride BPH in rats. Pharmacy of Kazakhstan. 2015;12:19-22. [in Russian]
View at: Elibrary: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36424751>
 15. Preclinical studies of drugs. Guidelines. Ed. O.B. Stefanov. Kyiv, 2001: 74-97. [in Ukrainian]
View at: URL: <https://www.twirpx.com/file/537410/>
 16. Prins G. Prolactin influence of cytosol and nuclear androgen receptors in the ventral, dorsal and lateral lobes of the rat prostate. Endocrinology. 1987 Apr; 120(4): 1457-64. DOI: 10.1210/endo-120-4-1457
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/120/4/1457/2541000?redirected-From=fulltext>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3493896/>
 17. Blanchere M., Berthaut I., Portois M.C., Mestayer C., Mowszowicz I. Hormonal regulation of the androgen receptor expression in human prostatic cells in culture. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 1998; 66(5-6): 319-26. DOI: 10.1016/S0960-0760(98)00056-9
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960076098000569?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9749837/>
 18. Asano K., Maruyama S., Usui T., Fujimoto N. Regulation of estrogen receptor alpha and beta expression by testosterone in the rat prostate gland. Endocrin Journal. 2003 Jun; 50(3): 281-7. DOI: 10.1507/endocrj.50.281
View at: Publisher Site: https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/50/3/50_3_281/_article
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12940456/>
 19. Ansari M.A., Begum D., Islam F. Serum sex steroids, gonadotrophins and sex hormonebinding globulin in prostatic hyperplasia. Ann. Saudi Med. 2008 May-Jun; 28(3): 174-8. DOI: 10.5144/0256-4947.2008.174.
View at: Publisher Site: <https://www.annsaudimed.net/doi/10.5144/0256-4947.2008.174>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18500180/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6074428/>
 20. Nelson WA, Tilley WD, Neal DE, Carroll JS. Estrogen receptor beta in prostate cancer: friend or foe? Endocrine-related cancer. 2014 Aug; 21(4): T219-T234. DOI: 10.1530/ERC-13-0508
View at: Publisher Site: <https://erc.bioscientifica.com/view/journals/erc/21/4/T219.xml>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24402043/>
 21. Madak-Erdogan Z, Charn TH, Jiang Y, Liu ET, Katzenellenbogen JA, Katzenellenbogen BS. Integrative genomics of gene and metabolic regulation by estrogen receptors a and b, and their coregulators. Molecular Systems Biology. 2013; 9: 676-8. DOI:10.1038/msb.2013.28.
View at: Publisher Site: <https://www.embopress.org/doi/full/10.1038/msb.2013.28>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23774759/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3964312/>

Article history

Received: 01.03.2021

Revision requested: 10.03.2021

Revision received: 20.03.2021

Accepted: 29.03.2021

Published: 31.03.2021

ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТА МАКЛЮРЫ ОРАНЖЕВОЙ И ПУТИ ЕГО РЕАЛИЗАЦИИ

¹Зайченко А.В., ² Тацкий Ю.А.

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

²Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

anna.zajjchenko@gmail.com

Актуальность. В эксперименте показано, что у крыс с сульпиридом индуцированной гиперплазией предстательной железы (СППЖ) при применении масляного экстракта маклюры оранжевой (МЭМ) нормализуется простатический индекс, улучшаются биохимические показатели и морфофункциональное состояние простаты. Однако механизм реализации корректирующего влияния остается неизвестным.

Цель: изучить вклад гормонально опосредованных сигнальных путей в механизм фармакологического действия масляного экстракта маклюры в форме ректальных суппозиториях при экспериментальной гиперплазии простаты у крыс.

Материалы и методы. На 60 крысах обоего пола изучена острая токсичность действующего вещества при внутривенном введении МЭМ (доза по действующему веществу 5000 мг/кг, n=12) или суппозиторной массы с МЭМ (доза по действующему веществу 1500 мг/кг, n=12). При ректальном введении токсичность исследовали при введении МЭМ (доза по действующему веществу 1000 мг/кг, n=12) или суппозиторной массы с МЭМ (доза по действующему веществу 300 мг/кг, n=12). Группу интактного контроля составили 12 крыс. Модель СППЖ создавали у самцов крыс (возраст 9-11 мес.) массой 330-360 г (n=18) введением сульпирида (40 мг/кг, внутривенно, 30 сут.). Крысы контрольной группы (n=6) получали 0,5 мл 0,9 % NaCl, внутримышечно. С 31 по 51 сут. эксперимента крысам в лечебном режиме вводили суппозитории с МЭМ (380 мг/кг, n=12)

или препарат сравнения Простаплант форте (35 мг/кг, n=6) один раз в сутки. Иммуноферментным методом в сыворотке крови определяли содержание тестостерона (Тс) и Е2, уровень 5 α -дигидротестостерона (5 α -ДГТ). В гомогенате простаты изучали содержание 5 α -редуктазы (5 α R), а также концентрацию андрогенных (AR) и эстрогенных (ER α) рецепторов.

Результаты. При введении максимально возможных количеств МЭМ токсического влияния на состояние внутренних органов не установлено, не было и случаев гибели животных. Использование суппозитория с МЭМ у крыс с СГПЖ нормализовало содержание половых гормонов. Выявлено существенное ингибирование активности 5 α R, уменьшение содержания AR, увеличение содержания ER α . В группе с введением Простаплант форте наблюдали аналогичные улучшения. Сделано предположение, что реализация антипролиферативного эффекта МЭМ осуществляется за счет коэкспрессии ER α и ER β , что приводит к блокированию способности ER α реагировать на лиганд (эстроген) и к уменьшению клеточной пролиферации.

Выводы. 1. Экстракт маклюры относится к IV классу токсичности при внутрижелудочном и ректальном введении (малотоксичные вещества). 2. Использование суппозитория с МЭМ у крыс с СГПЖ нормализует функциональную активность предстательной железы, что подтверждается нормализацией содержания половых гормонов. 3. Экстракт маклюры на уровне клеток железы ингибирует активность 5 α -редуктазы, уменьшает содержание рецепторов андрогенов и соотношение тестостерон/рецепторы андрогенов подобно действию лекарственных средств ингибиторов 5 α -редуктазы. 4. Фитосуппозитории с экстрактом маклюры в дозе 380 мг/кг не уступают по эффективности простатопротекторного действия препарату сравнения Простапланту форте в дозе 35 мг/кг.

Ключевые слова: сульпирид, гиперплазия простаты, крысы, половые гормоны, 5 α -редуктаза, рецепторы андрогенов, рецепторы эстрогенов.

PROSTATOPROTECTIVE EFFECT OF MACLURA POMIFERA OIL EXTRACT AND THE WAY IT IS IMPLEMENTED

¹ Zaychenko G.V., ² Tatskiy Yu.O.

¹ Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

² National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

anna.zajchenko@gmail.com

Relevance. In the experiment, it was shown that in rats with a sulphiride induced prostate hyperplasia (SGP) which were treated by the Maclura Pomifera oil extract (OEM), a prostatic index is normalized, biochemical indicators and morphofunctional state of prostate are improved. However, the mechanism of implementing corrective influence remains unknown.

Objective: to exam the contribution of hormonally mediated signaling pathways of the mechanism of pharmacological effect of oil extract in the form of rectal suppositories at the experimental hyperplasia of prostate in rats.

Materials and methods. On 60 rats of both sexes, an acute toxicity of the active substance was studied with intragastric administration of OEM (dose on the active substance 5000 mg / kg, n = 12) or suppositories mass with OEM (dose for the active substance of 1500 mg / kg, n = 12). Under rectal administration, toxicity was investigated with the introduction of OEM (dose of the active substance 1000 mg / kg, n = 12) or suppositories mass with OEM (dose for the active substance 300 mg / kg, n = 12). A group of intact control amounted to 12 rats. The SGP model was created in rats (age 9-11 months, body mass 330-360 g, n = 18) by sulphiride (40 mg / kg, i.p., 30 days). The rats of the control group (n = 6) were obtained with 0.5 ml of 0.9% NaCl, i.m. From 31 to 51 days of experiment, rats in therapeutic mode were treated with OEM suppositories (380 mg / kg, n = 12) or a reference drug ProstaPlast Forte (35 mg / kg, n = 6) once a day. The testosterone (Tc) and E2 content, level 5 α -dihydrotestosterone (5 α -DHT) were determined by the immunoferment method in serum. In the prostate homogenate, the content of 5 α -reductase (5 α R) was studied, as well as the concentration of androgenic (AR) and estrogenic (ER α) receptors.

Results. Toxic influence on the internal organs and deaths of animals after the introduction of the maximum possible amounts of OEM were not observed. The use of suppositories with OEM in rats with SGP normalized the content of sex hormones. Significant inhibition of 5 α R activity and a decrease in the content of AR, as well as an increase in the content of ER α were detected. The group with the introduction of the ProstaPlast forte was observed similar improvements. It was assumed that the implementation of the antiproliferative effect of the MEM is carried out due to the coexpression of the ER α and ER β , which leads to the blocking of the ER α ability to react to the ligand (estrogen) and to a decrease in cell proliferation.

Conclusions. 1. Extract of Maclura refers to the IV class of toxicity with intragastric and rectal administration (low-toxic substances). 2. The use of suppositories with OEM in rats with SGPH normalizes the functional activity of the prostate, which is confirmed by the normalization of the content of sex hormones. 3. Extract of Maclura in the prostate cells inhibits 5 α -reductase activity, reduces androgen receptors and the testosterone ratio / androgen receptors as the same to drugs with 5 α -reductase inhibition action. 4. Phytosuppositories with OEM in a dose of 380 mg / kg do not inferior on the efficiency of the prostatoprotective action of the referens drag ProstaPlast forte in a dose of 35 mg / kg.

Key words: sulphirid, prostate hyperplasia, rats, sex hormones, 5 α -reductase, androgen receptors, e

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВАГІНАЛЬНОГО ГЕЛЮ З РЕСВЕРАТРОЛОМ ТА ГІАЛУРОНОВОЮ КИСЛОТОЮ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПОЕСТРОГЕНОВОГО СТАНУ У ЩУРІВ

Стрига О. А. <https://orcid.org/0000-0002-9868-0264>

Зайченко Г. В. <https://orcid.org/0000-0002-3506-4800>

Савосько С.І. <https://orcid.org/0000-0001-5145-2195>

Сорокопуд К. Ю. <https://orcid.org/0000-0003-3448-7606>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

stri.lena26@gmail.com

Актуальність. Менопаузальний період внаслідок необоротної втрати функції яєчників супроводжується різними клінічними симптомами та системними змінами. У свою чергу, замісна гормональна терапія має ряд протипоказів та побічних ефектів, тому наразі є необхідність пошуку та створення профілактичних та лікувальних засобів на основі природних сполук, які мають спорідненість до β -естрогенових рецепторів. Вагінальний гель з ресвератролом та гіалуроновою кислотою здатний зменшити атрофічні прояви з боку слизової оболонки піхви та впливати на різноманітні симптоми періоду менопаузи. Однак характер впливу, дозування та наслідки тривалого застосування ресвератролу потребують подальшого вивчення.

Мета: вивчення фармакологічних властивостей нового вагінального гелю з ресвератролом і гіалуроновою кислотою (ГК) на моделі гіпоестрогенії у оваріоектомованих щурів.

Матеріали та методи. Досліди проведені на 24 аутобредних білих нелінійних самках щурів, які були розподілені на 4 групи: інтактний контроль, контрольована патологія, контрольована патологія та введення ресвератролу з гіалуроновою кислотою, контрольована патологія та введення препарату порівняння з синтетичним естрогеном. Ефективність препаратів оцінювали за їхнім впливом на вміст в крові статевих гормонів естрогену і прогестерону, на масу тіла, на температуру тіла, на pH вагінального секрету, на стан слизової оболонки піхви

Результати. Курсове 28-денне вагінальне введення гелю з ресвератролом та гіалуроновою кислотою уповільнювало та нормалізувало приріст маси тіла оваріоектомованих самок щурів, стабілізувало температуру шкіри, сприяло нормалізації pH вагінального секрету піхви, нормалізувало рівень статевих гормонів в крові, сприяло відновленню епітеліальної пластинки піхви.

Висновки. Отримані результати показали доцільність розробки та використання нового вагінального гелю з ресвератролом та гіалуроною кислотою, як альтернативи гормонотерапевтичним препаратам для профілактики або лікування патологічних гіпоестрогенових станів, що виникають на фоні дефіциту естрогенів.

Ключові слова: ресвератрол, фітоестрогенова активність, білатеральна оваріоектомія щурів, гіпоестрогеновий стан.

Актуальність. Менопауза – це природний біологічний процес, що характеризується припиненням менструації внаслідок необоротної втрати функції яєчників, включаючи овуляцію і продукцію естрогенів. Менопаузальні прояви супроводжуються різноманітними симптомами: вазомоторні симптоми, порушення сну, нервово-психічні порушення. Пізніше приєднуються генітоурінальні прояви, сексуальні розлади, зміни стану шкіри, серцево-судинні захворювання та інші, що погіршує якість життя жінки в період менопаузи [1].

Для корекції менопаузальних проявів призначають замісну гормональну терапію (ЗГТ), що ефективно зменшує патологічні прояви естрогендефіциту. Проте, препаратам цієї групи притаманна значна кількість побічних реакцій та протипоказань [2].

Враховуючи побічні реакції та протипоказання, є необхідність мінімізувати ризики та підвищити якість життя в менопаузальному періоді. Тому є необхідність пошуку та створення профілактичних та лікувальних засобів на основі природних спо-

лук, які мають спорідненість до β -естрогенових рецепторів. Увагу дослідників привертає, зокрема, ресвератрол.

Ресвератрол застосовують для фармакологічної корекції симптомів менопаузи [3]. Серед їх фармакологічних позитивних ефектів відзначають зниження частоти припливів [4, 5], корекцію сексуальних, генітоурінальних розладів [6] та вікових когнітивних дисфункцій [7, 8]. Ці засоби також використовують у постклімактеричному періоді з метою профілактики остеопорозу [9], ожиріння [10, 11], серцево-судинних захворювань, метаболічного синдрому та діабету 2 типу [12, 13], хіміопрофілактики раку молочної залози [11]. Свою ефективність фітоестрогени довели і при поширених у клімактеричному періоді дисфункціях тазового дна: при нетриманні сечі і калу, пролапсі органів малого тазу [14, 15].

Однак характер впливу, дозування та наслідки тривалого застосування фітоестрогенів, зокрема ресвератролу, потребують подальшого вивчення.

Мета: вивчення фармакологічних властивостей нового вагінального гелю з ресвератролом та гіалуроновою кислотою (ГК) на моделі гіпоестрогенії у оваріоектомованих щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проведені на 24 аутбредних білих нелінійних самках щурів, масою 208-220 г. і віком 6-8 міс. Тварини були виведені у розпліднику віварію НМУ імені О.О. Богомольця. Щури утримувались у стандартних умовах віварію: температура 20-25°C, відносна вологість 50-55%, природнє освітлення, раціон, рекомендований для цих видів тварин, питний режим «ad libitum». При проведенні експериментів дотримувались «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Тварин випадковим чином розподіляли на чотири експериментальні групи, в кожній з яких було по 6 самок: група 1 (n=6) – інтактний контроль (ІК); група 2 (n=6) – контрольна патологія (КП) – оваріоектомовані самки, у яких видаляли яєчники за методом Я.Д. Киршенבלата, під тіопенталовим наркозом в асептичних умовах; група 3 (n=6) – оваріоектомовані самки, які отримували 0,1 мл вагінального гелю з ресвератролом та гіалуроновою кислотою (КП + гель з Р та ГК), група 4 (n=6) – оваріоектомовані самки, які отримували референтний препарат порівняння вагінальний крем «Колпотрофін», що містить синтетичний естроген проместрин (КП + крем з П) 0,1 мл. Оцінку ефективності досліджуваних тест-зразків проводили за мікроскопічним станом слизової оболонки вагіни та структурними змінами серця.

Через 5 тижнів після білатеральної оваріоектомії самкам упродовж 28 днів інтравагінально вводили вагінальний гель з ресвератролом та гіалуроновою кислотою та референтний препарат крем з проместрином.

Вагінальний гель, що досліджувався, був розроблений під керівництвом професора О.А. Рубан на кафедрі заводської технології НФаУ. Крім ресвератролу, що містить фітоестроген, до його складу входять гіалуронова кислота (ГК), яка сприяє синтезу колагену та амінокислот неструктурованого матриксу – головної речовини сполучної тканини слизових оболонок генітоурінального тракту, та молочна кислота, яка є важливою складовою вагінального середовища.

Як препарат порівняння, за показаннями до застосування, обрано вагінальний крем «Колпотрофін» (Нідерланди, серія: 6Н772). Крем містить синтетичний естроген – проместрин (П) дозою 10 мг/г.

Ефективність тест-зразків оцінювали за низкою показників. Масу тіла тварин вимірювали на протязі 28 днів, вранці натще на лабораторних електронних

вагах FEN-300 (AnD, Україна). Температуру шкіри біля кореня хвоста реєстрували в інтервалі з 09.00 до 10.00 щодня протягом 28 днів (термометр Thermo Tek Q5, Medical Indicators Inc). Цей показник вважають еквівалентом симптому «приливів жару» у жінок. Кислотність вагінального секрету pH вимірювали двічі: за 24 години до початку лікування та після 28-денного лікування, через 24 години після останнього введення тест-зразку або препарату порівняння. Показник pH вагінального секрету визначали за допомогою pH-тестів Citolab (DFI Co, Ltd, Корея). Вміст статевих гормонів (естрадіол, прогестерон) в сироватці крові самок щурів проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 303 plus (Awareness Technology, США) із застосуванням стандартних наборів реактивів «Естрадіол ІФА» й «Прогестерон ІФА» (ТОВ «ХЕМА», Україна). Зразки піхви фіксували у 10%-розчині нейтрального формаліну (на фосфатному буфері, pH 7,4). З піхви отримували поперечні і поздовжні зрізи 2-3 мм і заливали у парафін (Leica Surgipath Paraplast Regular) через ізопропанол-парафіновий метод. Морфометричну оцінку проведено у пакеті програми Carl Zeiss (AxioVision SE64 Rel.4.9.1), для цього мікропрепарати досліджували і фотографували на мікроскопі Olympus BX 51. На мікрофотографіях з збільшенням об'єктиву $\times 20$, $\times 40$, які були одержані з однотипних ділянок досліджуваних зразків, вимірювали лінійні показники: у слизовій оболонці піхви – товщину епітеліальної пластинки (мкм).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм Statistica 6.0, з використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA, парного двовибіркового t-тесту для середніх (динаміка зміни температури шкірних покривів). Значення рядів і їх середньоквадратичні помилки порівнювали між собою з визначенням коефіцієнта Стюдента або Ньюмена-Кейлса – у випадку нормального розподілу, непараметричного критерію Крускала-Уолліса, Фішера – для даних, які не підкоряються нормальному закону розподілу. Статистичну морфологічну оцінку проведено у програмі Origin Lab version 8.0. Міжгрупові відмінності оцінювали за n критерієм Крускала-Уолліса, однофакторним ANOVA тестом. Дані наведено у вигляді медіани з кватильним розподілом (Me[Q1-Q3]) або середнього значення та похибки квадратичного відхилення ($M \pm SE$). Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Патологічне збільшення маси тіла в період менопаузи є наслідком дефіциту та дисбалансу естрогенів і гестагенів в крові. Характерним метаболічним проявом менопаузального синдрому є порушення ліпідного обміну, що може грати важливу та вирішальну

роль у розвитку метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу. При клімактеричному синдромі динаміка маси тіла є непрямим підтвердженням релевантності моделі гіпоестрогенемії та ефективності тест-сразка впливати на цей симптом, який виникає внаслідок дисбалансу стероїдних гормонів у крові в менопаузальний період [16]. На початку експерименту всі тварини мали приблизно однакову масу тіла: від $208,67 \pm 1,82$ г до $218,00 \pm 1,63$ г (табл.1).

В групі ІК наприкінці 5 тижня експерименту відзначався незначний приріст маси тіла тварин, який склав 2,6%. У той же час, після моделювання гіпоестрогенового стану маса тіла оваріоектомованих щурів статистично достовірно збільшувалася до $249,67 \pm 2,25$ г, і приріст її перевищував такий у інтактних щурів в середньому на 11,57-14,57 %. Спостереження за оваріоектомованими самками щурів (6-9 тижнів) показало, що маса тіла в групі КП достовірно збільшилася в порівнянні з ІК, а приріст її становив 5,6 %. В групі КП + гель з Р та ГК та в групі КП + крем з П маса тіла тварин, яких лікували, була нижче ($p < 0,05$), ніж маса тварин в групі КП, а втрати жирової маси тканини складала в середньому 27,84 -29,17 г.

З початку експерименту на момент первинного зважування і до виведення щурів з експерименту (9-й тиждень) приріст маси тіла у самок щурів в групі КП

+ гель з Р та ГК був на 17,04% нижче, ніж в групі КП і достовірно не відрізнявся від значень препарату порівняння.

Це вказує на те, що при 28-денному курсовому введенні вагінальний гель, що містить фітоестроген ресвератрол, здатний уповільнити та нормалізувати приріст маси тіла у оваріоектомованих самок щурів. При цьому в групі тварин, яким в якості замісної гормонотерапії вводили крем з П, маса щурів практично наближалася до маси тіла здорових тварин. Як бачимо, жоден з досліджуваних препаратів не викликав збільшення маси оваріоектомованих щурів. Проте, найбільш ефективним засобом для нормалізації надмірної ваги при гіпоестрогенії виявилися вагінальний гель з ресвератролом.

Також до ранніх клімактеричних симптомів відносяться вазомоторні порушення, а саме припливи жару, нічна пітливість [17]. Жіночі статеві гормони впливають на всі органи, включаючи центральну нервову систему, кровоносні судини, серце, кістки, слизові оболонки піхви, сечовидільну систему, шкіру та ін. Для виявлення вазомоторних реакцій у тварин вимірювали температуру шкіри біля корення хвоста на протязі 4 тижнів (табл. 2).

На відміну від інтактних (здорових) тварин, у яких графік температури шкіри впродовж 4 тижнів

Таблиця 1

Динаміка змін маси тіла оваріоектомованих самок щурів до та після лікування

Група	Маса щурів до оваріоектомії, г	Маса через 5 тижнів після моделювання патології		Маса після 4 тижнів лікування (9 тижнів експерименту)		Приріст маси з початку експерименту, %
		Абс, г	Приріст, %	Абс, г	Приріст чи зниження, %	
ІК	$208,67 \pm 1,82$	$214,17 \pm 2,18$	2,6	$217,83 \pm 2,51$	1,74	4,55
КП	$211,33 \pm 1,15$	$246,33 \pm 1,19^*$	14,22	$260,17 \pm 1,92^*$	5,6	23
КП + гель з Р та ГК	$218,00 \pm 1,63$	$245,33 \pm 3,16^*$	11,15	$231,00 \pm 2,46^{*/\#}$	-5,84	5,96
КП + крем з П	$217,5 \pm 2,63$	$249,67 \pm 2,25^*$	12,9	$232,33 \pm 2,67^{*/\#/\&}$	-6,96	6,83

Примітки: * – достовірно відносно групи ІК ($p < 0,05$); # – достовірно відносно групи КП ($p < 0,05$); & – достовірно відносно групи КП + гель з Р та ГК ($p < 0,05$)

Таблиця 2

Динаміка температури тіла (t_0) у кореня хвоста оваріоектомованих самок до та після лікування

Група	t_0 до оваріоектомії, $^{\circ}\text{C}$	t_0 через 5 тижнів після моделювання патології		t_0 після 4 тижнів лікування (9 тижнів експерименту)		Підвищення t_0 з початку експерименту, %
		Абс, $^{\circ}\text{C}$	$\uparrow$, %	Абс, $^{\circ}\text{C}$	$\uparrow$ чи $\downarrow$, %	
ІК	$32,83 \pm 0,14$	$32,92 \pm 0,05$	0,28	$32,94 \pm 0,11$	0,06	0,34
КП	$32,9 \pm 0,12$	$36,18 \pm 0,05^*$	9,1	$36,15 \pm 0,03^*$	-0,08	10
КП + гель з Р та ГК	$32,8 \pm 0,8$	$35,67 \pm 0,05^*$	8,2	$33,12 \pm 0,12^{\#}$	-7,2	1
КП + крем з П	$32,75 \pm 0,18$	$35,52 \pm 0,16^*$	7,9	$33,27 \pm 0,3^{\#}$	-6,42	1,6

Примітки: * – статистично достовірна різниця з групою ІК ($p < 0,05$); # – статистично достовірна різниця з групою КП ($p < 0,05$).

мав монотонний характер, коливаючись у межах від 32,70 до 32,94 °С, у оваріоектомованих самок (група КП) відмічено коливання температури до 36,18 °С на 5-й тиждень і до кінця експерименту, це свідчить про вазомоторні реакції, які кваліфікували, як рівнозначні «приливам жару».

В групах оваріоектомованих самок щурів, яким проводили лікування вагінальним гелем з ресвератролом та гіалуриновою кислотою, температура тіла не відрізнялася від норми, $t = 33,120$ С, що свідчить про нормалізацію терморегуляції на фоні курсового лікування. Також при введенні крему з промєстрином температура коливалась в межах норми, $t = 33,270$ С. Цей показник статистично достовірно відрізнявся від значень температури у оваріоектомованих самок щурів з групи КП ($p < 0,05$). Підбиваючи підсумки, можна припустити, що дія фітоестрогенів у досліджувальному гелі з Р та ГК була пов'язана зі здатністю зменшувати вивільнення гормонів, таких як ТТГ (тіреотропний гормон) та ЛГ (лютеїнізуючий гормон), які відіграють ключову та важливу роль у патогенезі «приливів жару» в клімактеричному періоді [18].

Під час менопаузи в жіночому організмі зменшується кількість вироблення жіночих статевих гормонів. Такі гормональні перебудови зменшують кількість секрету, і зникає поживне середовище для лактобактерій, внаслідок чого зростає рН вагінального секрету піхви. В цей період жінки відчують сухість у піхві, подразнення, а рівень рН (в нормі 4,0-4,5) підвищується до 6,5-7,0. Лужне середовище стоншує слизову оболонку піхви, викликає сухість, з'являються мікротріщинки і ймовірність зараження різними інфекціями, що приводить до симптомів атрофічного вагініту та дискомфорту під час статевих контактів, знижується якість життя.

У зв'язку з цим вивчався вплив досліджуваного тест-зразка на показник рН вагінального секрету у самок щурів з гіпоестрогенією (рис. 1).

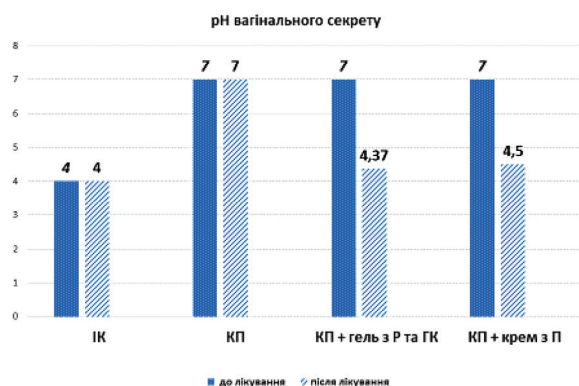


Рис. 1. Значення рН вагінального секрету у самок щурів.

Примітки: перші стовпчики в парах – вихідні значення рН; другі стовпчики – значення рН після 28-денного курсу лікування.

Через 5 тижнів після проведеної операції оваріоектомії самки щурів були поділені на групи, між якими перед початком лікування не було відзначено різниці в показниках рН. При вимірюванні рН вагінальних змивів встановлено, що у самок щурів показник рН збільшився з 4,0 до 7,0, тобто кислотність вагінального секрету зменшувалася (рис. 1). При гіпофункції яєчників зменшується синтез естрогенів. Естрогени збільшують вміст глікогену, який активує розростання багатошарового епітелію, а відлучені клітини епітелію є субстратом для ферментів життєдіяльності лактобактерій, які, в свою чергу, утворюють молочну кислоту, що є основним механізмом дії формування кислотності вагінального середовища.

Після лікування кислотність вагінального секрету вимірювали вдруге. Таким чином, встановлено, що значення рН вагінального секрету в групах самок щурів зі збереженими і видаленими яєчниками не змінилася, залишилася на відмітках 4,0 і 7,0, відповідно (рис. 1).

Курсове 28-денне лікування оваріоектомованих самок вагінальним гелем з ресвератролом та гіалуриновою кислотою позитивно впливало на стан слизової оболонки піхви, зокрема призводило до відновлення фізіологічного діапазону значень кислотності вагінального секрету (показник рН знижується до фізіологічних значень, а саме 4,37-4,5). Цей показник статистично достовірно відрізнявся від показника у нелікованих тварин КП. Після лікування оваріоектомованих самок щурів кремом з промєстрином спостерігалася нормалізація рН вагінального секрету, і цей показник майже відповідав даним групи ІК.

Таким чином, даний досліджувальний вагінальний гель з ресвератролом та гіалуриновою кислотою сприяв зниженню та нормалізації рН до показника, який характеризував середу вагінального секрету, як кислу, і не поступався при цьому препарату порівняння крему з промєстрином.

Найбільш характерні зміни, які спостерігаються після хірургічного видалення яєчників, стосуються рівня статевих гормонів – естрадіолу та прогестерону в крові.

Період менопаузи є нормальним фізіологічним процесом та характеризується зниженням синтезу і секреції статевих стероїдних гормонів. Рівень естрогену і прогестерону впливають на всі органи і системи жіночого організму та є «мішенями» при гіпоестрогеновому стані.

Вміст статевих гормонів (естрадіол, прогестерон) в сироватці крові самок щурів проводили імуноферментним методом. Результати ІФА продемонстрували статистично достовірне зниження рівня гормонів на фоні двосторонньої оваріоектомії, а саме: рівня естрадіолу – в 2 рази, а прогестерону – в 2,8 рази, відносно даних групи ІК, що напряду пов'язано з оперативним втручанням і різким зниженням стероїдних гормонів.

Таблиця 3

Вміст статевих гормонів у сироватці крові оваріоектомованих самок щурів

Група	Рівень естрадіолу, пг/мл	Рівень прогестерону, пг/мл
ІК	46,7±0,6	23,3±0,3
КП	23,07±0,3*	8,3±0,2*
КП + гель з Р та ГК	35,45±0,8*/#	12,1±0,3*/#
КП + крем з П	39,5±0,8*/#/ε	15,9±0,4*/#/ε

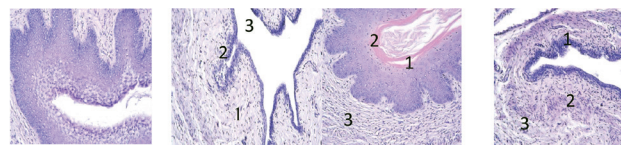
Примітки: * – статистично достовірна різниця з даними групи ІК ($p < 0,05$); # – статистично достовірна різниця з даними групи КП ($p < 0,05$); ε – статистично достовірна різниця з даними групи КП + гель з Р та ГК ($p < 0,05$);

Курсове вагінальне введення гелю з ресвератролом та гіалуриновою кислотою помірно впливало на рівень статевих гормонів. Вміст естрадіолу в сироватці крові тварин цієї групи хоча і був в 1,5 рази вище ($p < 0,05$), ніж у самок щурів групи КП, але все ж таки не досягав значень ІК. Аналогічно, спостерігалось зростання рівня прогестерону, який у 1,4 рази ($p < 0,05$) перевищував показник у нелікованих оваріоектомованих самок і так само не досягав рівня інтактних тварин. Рівень естрадіолу в сироватці крові самок, які отримували крем з промєстрином, вірогідно не відрізнявся від даних інтактною групи тварин, тоді як рівень прогестерону був у 1,5 разів меншим, ніж у самок ІК. Отримані результати свідчать, що жодний препарат не здатний цілком відновити гормональний фон у сироватці крові експериментальних тварин. Препарат порівняння корегував стан гіпоестрогенемії, але слабо впливав на рівень прогестерону. Особливої уваги заслуговує те, що застосування вагінального гелю з Р та ГК майже нормалізувало рівень естрадіолу та прогестерону в порівнянні з КП.

З метою об'єктивної оцінки лікувальної дії було доцільним дослідити вплив тест-зразків на мікро- та макроскопічний стан тканин слизової оболонки піхви самок щурів з гіпоестрогенемією.

Гістоструктура піхви самок щурів групи ІК відповідала видовій нормі, а саме: стінка піхви складалася з трьох оболонок: внутрішньої, середньої м'язової оболонки (власна пластинка слизової оболонки – строма) та зовнішньої сполучнотканинної оболонки. Епітеліальна пластинка характеризувалась достатньою товщиною епітеліальної пластинки (в середньому 200-400 мкм) та складалася з багатошарового незроговілого епітелію, з чіткою морфофункціональною диференціацією на базальний, проміжний та поверхневий шари (рис. 2). На морфологічному рівні представлена власна пластинка – пухкою сполучною тканиною, яка вростає у епітеліальну пластину у вигляді сосочків. Вона містить поодинокі кровоносні

капіляри, фібробласти та макрофаги (особливо на межі з епітеліальною пластинкою). У сполучній тканині реєстрували кровоносні судини (поодинокі гемоканіляри). Морфологічних ознак запального процесу, крововиливів або дистрофічних змін епітеліальної пластинки слизової оболонки піхви не відмічалось. Десквація епітелію та помірна інфільтрація макрофагів у зразках відповідала фізіологічному стану слизової оболонки піхви [19].



а-ІК б-КП в-гель з Р та ГК г- крем з П

Рис. 2. Морфологічний і гістологічний стан епітеліальної пластинки піхви:

а – інтактних самок (фізіологічний стан); б – самок групи КП, 35 доба після оваріоектомії (різке зменшення товщини епітеліальної пластинки, як прояв атрофічних змін епітелію слизової оболонки піхви); в – самок групи КП + гель з Р та ГК (виражені відновні процеси епітеліальної пластинки слизової оболонки піхви, регенерація епітелію); г – самок групи КП+ крем з П (активація відновного процесу, атрофічні прояви епітеліальної пластинки).

Примітки: 1 – просвіт піхви; 2 – епітеліальна пластинка; 3 – власна пластинка слизової оболонки. Гематоксильн-еозин, об. 20, ок. 10.

Таблиця 4

Морфометрична оцінка стану слизової оболонки піхви оваріоектомованих самок щурів

Група	Товщина епітеліальної пластинки, мкм; Me [Q1-Q3]
ІК	183,2 [129,9 – 244,6]
КП	39,4 [33,5 – 52,3]*
КП + гель з Р та ГК	173,1 [141,1 – 215,9]#
КП + крем з П	95,4 [75,1 – 112,6]#

Примітки: * – достовірно по відношенню до групи тварин ІК, $p < 0,05$. # – достовірно по відношенню до групи тварин КП, $p < 0,05$;

У всіх шести зразках піхв самок щурів групи КП морфологічна картина характеризувалася різким зменшенням товщини епітеліальної пластинки (в середньому дорівнювало 39,4 мкм). Цей показник був суттєво меншим у порівнянні з тваринами групи ІК (рис. 2, табл. 4). Товщина епітеліальної пластинки неоднорідна, в ділянках реєстрували поодинокі клітини на стадії мітозу, але також частіше виявляли клітини у стані каріопікнозу, що є цитологічною ознакою їх загибелі. Стан сполучної тканини мав деяку відмінність: від незміненої морфології до збільшення щільності фібробластів. Збільшення фібробластів може бути пов'язано з явищами ремоделювання міжклітинного матриксу на фоні атрофічних проявів та поєднанням з початковими запальними процесами (реєстрували появу нейтрофілів, макрофагів та еозинофілів

у сполучній тканині). Сосочки власної пластинки були слабо виражені або взагалі відсутні. На основі морфологічних та морфометричних досліджень зроблено висновок про розвиток, який свідчить про атрофічні зміни слизової оболонки піхви (головним чином епітеліальної пластинки) після оваріоектомії у всіх досліджених зразках тварин групи КП.

Таким чином, після оваріоектомії зменшення кількості ендогенних естрогенів призводило до змін в нижньому відділі генітального тракту самок щурів.

При курсовому введенні тест-зразка з Р та ГК спостерігалися ознаки типової естрогеноподібної дії, регенеративних процесів та підвищення функціонального стану (секретоутворення) слизової оболонки вагіни.

У зразках епітелій характеризувався відновленням проміжного і функціонального шару, але останній піддавався кератинізації, чого у інтактних щурів не реєстрували. У просвіті піхви виявлено десквамовані, кератинізовані епітеліоцити. У власній пластинці піхви встановлено часткове відновлення рельєфу сосочків, проте їх морфологічні ознаки не досягали інтактного стану. У 4 зразках у пухкій сполучній тканині було зареєстровано рясну інфільтрацію еозинофілів. Це було оцінено як прояв імунної реакції на лікування вагінальним гелем з фітоестрогеном. За результатами морфометрії, виявлено відновлення товщини епітеліальної пластинки (в середньому від 173,1 мкм).

Грунтуючись на результатах статистичних даних морфометричного аналізу зроблено висновок про відновлення стану епітеліальної пластинки піхви порівняно з нелікованими тваринами. Статистично значущої різниці з показником самок щурів групи ІК не виявлено, але морфофункціональний стан епітеліальної та власної пластинки піхви самок щурів все ще не досягав остаточного відновлення.

Результати дослідження показників щурів дослідної групи, яким вводили крем з промєстрином наведені на рисунку 2-г та у таблиці 4. Гістологічна картина стану слизової оболонки піхви свідчила, що товщина епітеліальної пластинки була стоншеною у порівнянні з групою інтактних тварин. Морфофункціональний стан слизової оболонки піхви самок свідчив про збереження атрофічних змін епітеліальної пластинки (товщина в середньому становила 95,4 мкм), збільшенням шарів епітеліоцитів (відновлення проміжного шару), частковим відновленням рельєфу сосочків власної пластинки. Такі зміни оцінено, як незначні прояви регенеративних процесів під дією референтного засобу. Проте, відновлення слизової оболонки до стану інтактних тварин не виявлено в жодному з досліджених зразків.

Лікування тест-зразком вагінального гелю з ресвератролом та гіалуроновою кислотою більш виражено усувало атрофічні прояви в слизовій оболонці піхви, стимулювало відновні процеси, що наближало стан слизової оболонки вагіни самок до тварин групи ІК.

Ми вважаємо, що отримані результати показали доцільність подальшої розробки та використання нового вагінального гелю з ресвератролом та гіалуроновою кислотою, як альтернативи гормоновмісним препаратам, для профілактики або лікування патологічних гіпоестрогенових станів, що виникають на фоні дефіциту естрогенів. Адже період менопаузи – новий фізіологічний етап життя та здоров'я жінки. А підтримка рівня статевих гормонів у жінок в менопаузальному періоді і адекватна терапія в значній мірі знижують ризик небажаних наслідків.

ВИСНОВКИ

1. У самок щурів після білатеральної оваріоектомії відмічено зростання маси тіла, коливання температури шкіри біля кореня хвоста, збільшення показника рН вагінального секрету піхви та атрофічні прояви слизової оболонки піхви, що відповідає клінічним проявам клімактеричного синдрому.
2. Курсове 28-денне вагінальне введення гелю з ресвератролом та гіалуроновою кислотою овариоектомованим самкам щурів уповільнювало та нормалізувало приріст маси тіла, стабілізувало температуру шкіри та сприяло нормалізації рН вагінального секрету піхви.
3. Ресвератрол в складі вагінального гелю нормалізував в крові кастрованих самок рівень естрогену та прогестерону.
4. Вагінальний гель з ресвератролом та гіалуроновою кислотою сприяв відновленню стану епітеліальної пластинки вагіни овариоектомованим тварин, при цьому ефективність цього гелю перевершувала дію препарату порівняння.

REFERENCES

1. Zeleke BM, Bell RJ, Billah B, Davis SR. Vasomotor and sexual symptoms in older Australian women: a cross-sectional study. *Fertil Steril*. 2016 Jan; 105 (1):149-55.e1. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.017. View at: Publisher Site: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(15\)01934-2/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(15)01934-2/fulltext) Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0015028215019342> PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26450529/> Europe PMC: <http://europepmc.org/article/med/26450529>
2. Yan F, Robert M, Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2017 Nov 1; 9 (5) : 157-63. View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29209453/> PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5698693/>
3. Rietjens I, Louisse J, Beekmann K. The potential health

- effects of dietary phytoestrogens. *Br J Pharmacol*. 2017 Jun; 174 (11): 1263-80. DOI: 10.1111/bph.13622
View at: Publisher Site: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bph.13622>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27723080/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5429336/>
4. Daily JW, Ko B-S, Ryuk J, Liu M, Zhang W, Park S. Equol Decreases Hot Flashes in Postmenopausal Women: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *J Med Food*. 2019 Feb; 22 (2): 127-39. DOI: 10.1089/jmf.2018.4265
View at: Publisher Site: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2018.4265>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30592686/>
 5. Chen M-N, Lin C-C, Liu C-F. Efficacy of phytoestrogens for menopausal symptoms: a meta-analysis and systematic review. *Climacteric*. 2015 Apr; 18 (2): 260-9. DOI: 10.3109/13697137.2014.966241.
View at: Publisher Site: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13697137.2014.966241>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25263312/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4389700/>
 6. Najafi MN, Ghazanfarpour M. Effect of phytoestrogens on sexual function in menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Climacteric*. 2018 Oct; 21 (5): 437-45. DOI: 10.1080/13697137.2018.1472566.
View at: Publisher Site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/13697137.2018.1472566?journalCode=icmt20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30156931/>
 7. Alwerdt J, Patterson AD, Sliwinski MJ. Gender Differences in Phytoestrogens and the Relationship with Speed of Processing in Older Adults: A Cross-Sectional Analysis of NHANES, 1999-2002. *Nutrients*. 2019 Aug; 11(8): 1780. DOI: 10.3390/nu11081780
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/8/1780>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31374973/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6723727/>
 8. Evans HM., Howe PRC, Wong RHX. Effects of Resveratrol on Cognitive Performance, Mood and Cerebrovascular Function in Post-Menopausal Women; A 14-Week Randomised Placebo-Controlled Intervention Trial. *Nutrients*. 2017 Jan; 9(1): 27. DOI: 10.3390/nu9010027
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/2072-6643/9/1/27>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28054939/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5295071/>
 9. Bo S, Gambino R, Ponzo V, Cioffi I, Goitre I, Evangelista A, Ciccone G, Cassader M, Procopio M. Effects of resveratrol on bone health in type 2 diabetic patients. A double-blind randomized-controlled trial. *Nutr Diabetes*. 2018 Sep 20; 8(1): 51. DOI: 10.1038/s41387-018-0059-4
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41387-018-0059-4>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30237505/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6147949/>
 10. Hall JM, Powell HR, Rajic L et al. The Role of Dietary Phytoestrogens and the Nuclear Receptor PPAR γ in Adipogenesis: An in Vitro Study. *Environ Health Perspect*. 2019 Mar; 127(3): 037007. DOI: 10.1289/EHP3444
View at: Publisher Site: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/EHP3444>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30920877/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6768326/>
 11. Rossi EL, Khatib SA, Doerstling SS, Bowers LW, Pruski M, Ford NA, Glickman RD, Niu M, Yang P, Cui Z, DiGiovanni J, Hursting SD. Resveratrol inhibits obesity-associated adipose tissue dysfunction and tumor growth in a mouse model of postmenopausal claudin-low breast cancer. *Mol Carcinog*. 2018 Mar; 57 (3): 393-407. DOI: 10.1002/mc.22763
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mc.22763>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29197120/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6053655/>
 12. Glisic M, Kastrati N, Gonzalez-Jaramillo V, Bramer WM, Ahmadizar F, Chowdhury R, Danser AJ, Roks AJ, Voortman T, Franco OH, Muka T. Associations between Phytoestrogens, Glucose Homeostasis, and Risk of Diabetes in Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Nutr*. 2018 Nov; 9 (6): 726-40. DOI: 10.1093/advances/nmy048
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/advances/article/9/6/726/5194328>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30462180/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6247339/>
 13. Li Y, Huang J, Yan Y, Liang J, Liang Q, Lu Y, Zhao L, Li H. Preventative effects of resveratrol and estradiol on streptozotocin-induced diabetes in ovariectomized mice and the related mechanisms. *PLoS One*. 2018; 13 (10): e0204499. DOI: 10.1371/journal.pone.0204499
View at: Publisher Site: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0204499>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30273360/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6166971/>
 14. Cardenas-Trowers O, Meyer I, Markland AD, Richter HE, Addis I. A Review of Phytoestrogens and Their Association with Pelvic Floor Conditions. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*. 2018 May-Jun; 24 (3): 193-202. DOI: 10.1097/SPV.0000000000000559
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/fp-mrs/Abstract/2018/05000/A_Review_of_Phytoestrogens_and_Their_Association.1.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29432329/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>

- articles/PMC5920717/
15. Cardenas-Trowers O, Meyer I, Richter HE, Addis I, Markland AD. Association of Urinary Phytoestrogens with Pelvic Organ Prolapse and Fecal Incontinence Symptoms in Post-menopausal Women. *Female Pelvic Med Reconstr Surg.* 2019 Mar-Apr; 25 (2): 161-6. DOI: 10.1097/SPV.0000000000000661
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/fp-mrs/Abstract/2019/03000/Association_of_Urinary_Phytoestrogens_With_Pelvic.17.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30807421/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6504965/>
16. Al-Safi ZA, Polotsky AJ. Obesity and Menopause. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2015 May; 29(4): 548-53. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2014.12.002
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521693414002582?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25579233/>
17. Sorokina A. [Alternative methods for correcting menopausal disorders]. *Doctor.* 2019; (9): 51-8. [In Russian]. DOI: 10.29296/25877305-2019-09-17
View at: Publisher Site: <https://vrachjournal.ru/25877305-2019-09-17>
18. Morrow P.K., Mattair D.N., Hortobagyi G.N. Hot flashes: a review of pathophysiology and treatment modalities. *Oncologist.* 2011; 16(11): 1658-64. DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0174
View at: Publisher Site: <https://theoncologist.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1634/theoncologist.2011-0174>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22042786/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3233302/>
19. Zaichenko GV, Striga OA, Mironenko OI, Ivanyuk OI [Pharmacological substantiation of the choice of the optimal composition of a new vaginal gel with resveratrol and hyaluronic acid]. *Pharmacology and drug toxicology* 2020; 14(6): 397-412. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.33250/14.06.397>
View at: Publisher Site: <https://www.pharmtox-j.org.ua/index.php/pharmtox-j/article/view/95>

Article history
Received: 07.03.2021
Revision requested: 13.03.2021
Revision received: 26.03.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВАГИНАЛЬНОГО ГЕЛЯ С РЕСВЕРАТРОЛОМ И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОЭСТРОГЕНОВОГО СОСТОЯНИЯ У КРЫС

Стрига О.А., Зайченко А.В., Савосько С.И., Сорокопуд Е.Ю.

Національний медичинський університет імені А. А. Богомольця, Київ, Україна

stri.lena26@gmail.com

Актуальность. Менопаузальный период вследствие необратимой потери функции яичников сопровождается различными клиническими симптомами и системными изменениями. В свою очередь, заместительная гормональная терапия имеет ряд противопоказаний и побочных эффектов, поэтому существует необходимость поиска и создания профилактических и лечебных средств на основе природных соединений, которые имеют сходство с β -эстрогеновыми рецепторами. Вагинальный гель с ресвератролом и гиалуроновой кислотой способен уменьшить атрофические проявления со стороны слизистой оболочки влагалища и влиять на различные симптомы периода менопаузы. Однако характер влияния, дозировка и последствия длительного применения ресвератрола требуют дальнейшего изучения.

Цель: изучение фармакологических свойств нового вагинального геля с ресвератролом и гиалуроновой кислотой (ГК) на модели гипострогении у овариоэктомизированных крыс.

Материалы и методы. Опыты проводились на 24 аутобредных белых нелинейных самках крыс, которые были распределены на 4 группы: интактный контроль, контролируемая патология, контролируемая патология и введение ресвератрола с гиалуроновой кислотой, контролируемая патология и введение препарата сравнения с синтетическим эстрогеном. Эффективность препаратов оценивали по их влиянию на содержание в крови половых гормонов эстрогена и прогестерона, на массу тела, на температуру тела, на pH вагинального секрета, на состояние слизистой оболочки влагалища.

Результаты: курсовое 28-дневное вагинальное введение геля с ресвератролом и гиалуроновой кислотой замедляло и нормализовало прирост массы тела овариоэктомизированных самок крыс, стабилизировало температуру тела, способствовало нормализации pH вагинального секрета, нормализовало уровень половых гормонов в крови, способствовало восстановлению эпителиальной пластинки влагалища.

Выводы: полученные результаты показали целесообразность разработки и использования нового вагинального геля с ресвератролом и гиалуроновой кислотой, как альтернативы гормональным препаратам для профилактики и/или лечения патологических гипострогеновых состояний, возникающих на фоне дефицита эстрогенов.

Ключевые слова: ресвератрол; фитоэстрогеновая активность; билатеральная овариоэктомия крыс; гипострогеновое состояние.

THE INVESTIGATION OF PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF VAGINAL GEL WITH RESVERATROL AND HYALURONIC ACID IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPOESTROGENIC STATE IN RATS

Stryha O.A., Zaychenko G.V., Savosko S.I., Sorokopud K.Y.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

stri.lena26@gmail.com

Relevance. The menopausal period due to irreversible loss of ovarian function is accompanied by various clinical symptoms and systemic changes. In turn, hormone replacement therapy has a number of contraindications and side effects, so now there is a need to find and create prophylactic and therapeutic agents based on natural compounds that are related to β -estrogen receptors. Vaginal gel with resveratrol and hyaluronic acid can reduce atrophic manifestations of the vaginal mucosa and affect various symptoms of menopause. However, the nature of the effect, dosage and consequences of long-term use of resveratrol need further study.

Objective: to study pharmacological properties of a new vaginal gel with resveratrol and hyaluronic acid (HA) in a model of hypoestrogenism in ovariectomized rats.

Materials and methods. The experiments were performed on 24 outbred white nonlinear female rats, which were divided into 4 groups: intact control, controlled pathology, controlled pathology and administration of resveratrol with hyaluronic acid, controlled pathology and administration of a comparison drug with synthetic estrogen. The effectiveness of the drugs was assessed by their effect on the blood levels of the sex hormones estrogen and progesterone, on body weight, on body temperature, on the pH of vaginal secretions, on the state of the vaginal mucosa..

Results. 28-day vaginal injection of gel with resveratrol and hyaluronic acid slowed down and normalized weight gain of ovariectomized female rats, stabilized skin temperature and induced normalization of the pH of vaginal secretions of the vagina, normalized the level of sex hormones in the blood, promoted the restoration of the epithelial plate of the vagina.

Conclusions. The results showed the feasibility of developing and using a new vaginal gel with resveratrol as an alternative to hormone-containing drugs for the prevention or treatment of pathological hypoestrogenic conditions arising from estrogen deficiency.

Key words: resveratrol; phytoestrogenic activity; bilateral ovariectomy of rats; hypoestrogenic state.

RELATIONSHIP BETWEEN THE FUNCTIONAL RESERVE OF THE HEART AND THE PHYSICAL FACILITY OF ADOLESCENTS OF THE SPECIAL MEDICAL GROUP

Sitovskiy A.M. <https://orcid.org/0000-0002-7434-7475>
Andriychuk O.Ya. <https://orcid.org/0000-0003-4415-4696>
Usova O.V. <https://orcid.org/0000-0002-6227-0597>
Yakobson O.O. <https://orcid.org/0000-0002-7340-2014>
Ulianytska N.Ya. <https://orcid.org/0000-0002-7369-8935>
Tsjupak T.E. <https://orcid.org/0000-0002-7891-6882>

Lesya Ukrainka Volyn National University, Lutsk, Ukraine

andriy.sitovskiy@gmail.com;

Relevance. The most common indicators for assessing the effectiveness of health technologies are the cardiovascular performance of adolescents. At present, there is insufficient information on the quantitative substantiation of informativeness, prognostic and diagnostic significance of such indicators in the process of correction of functional and reserve capabilities of the cardiovascular system of adolescents.

Objective: to determine the levels of functional reserve of the heart according to the Rufier index and to study the physical performance of students aged 12-14 years of different medical groups.

Materials and methods. 178 seventh-eighth-graders aged 12-14 (85 boys and 93 girls) were examined. All students voluntarily participated in this experiment, and the written consent of their parents was obtained. Physical performance was studied according to the parameters of the bicycle ergometric test PWC170. The division of students into medical groups was carried out according to the indicators of the level of functional and reserve capabilities of the cardiovascular system, conducted according to the Rufier index. Statistical analysis of the results was performed using the application package Statistica-V.10.0. The normality of the distribution was checked by the Kolmogorov-Smirnov test. The studied indicators are described by the median (Me) and 25, 75 percentiles. The relationships of the studied indicators were analyzed according to Spearman's rank correlation coefficients. To determine the reliability of differences in indicators used the criterion of Kruskal Wallis.

Results. The main group included 13.5% of adolescents, the preparatory group – 35.4%, the special medical group – 51.1% of students. Among student-athletes, 25.9% of boys and 45.4% of girls belong to a special medical group. In school athletes, the correlations between the Rufier index and the PWC170 test are low and statistically insignificant. Indicators of physical performance in the range of 25-75 percentiles do not differ in different medical groups. This indicates that in a special medical group there are students with medium and high levels of physical fitness.

Conclusions. The established age and gender differences in the functional reserve of the heart of schoolchildren determine the need to develop differentiated approaches to the assessment of the Rufier index. Physical performance in different medical groups varies in a fairly wide range. The division of students into medical groups according to the Rufier index does not reflect the level of physical performance of students and, accordingly, their real adaptive capabilities. Further studies are needed on the informativeness of using the Rufier test to divide students into medical groups.

Keywords: adolescents, Rufier's test, physical performance, medical groups.

Relevance. The most common indicators for assessing the effectiveness of health technologies are the cardiovascular performance of adolescents. At present, there is insufficient information on the quantitative substantiation of informativeness, prognostic and diagnostic significance of such indicators in the process of correction of functional and reserve capabilities of the cardiovascular system of adolescents.

A necessary and obligatory condition for the division of students into medical groups is to determine the functional and reserve capabilities of the cardiovascular system by the Rufier test [1].

According to a survey of pediatricians, the main need to determine the medical group for physical education is due to the entry of children into school; the beginning

of the school year; registration of the child in the sports section (70.69% – 82.76% of cases), and at the request of parents only 39.66% [2].

Numerous studies indicate that according to the Rufier index, most students belong to a special medical group [3-28].

On the other hand, it is pointed out that among adolescents who are additionally engaged in sports sections, a significant part also belongs to the special and preparatory medical group according to the Rufier index [11, 23, 25]. At the same time, there is also information that the response of the cardiovascular system to exercise, according to the Rufier index, in all adolescents 13 years is below average and is almost no different from schoolchildren who do and do not play sports [24].

Studies that would characterize the physical performance of students of different medical groups are virtually absent. This confirms the need for further study of the functional reserve of the heart in relation to the physical performance of adolescents in different medical groups.

Objective: to determine the levels of functional reserve of the heart according to the Rufier index and to study the physical performance of students aged 12-14 years of different medical groups.

MATERIAL AND METHODS

178 seventh-eighth-graders aged 12-14 were surveyed (mean age 13.0 ± 0.7 years). Of these, 85 boys (mean age 13.1 ± 0.7 years) and 93 girls (mean age 12.9 ± 0.7 years). The study was conducted at the beginning of the school year. All students voluntarily participated in this experiment, and the written consent of their parents was obtained. The research was performed in compliance with the basic provisions of the «Rules of ethical principles of scientific medical research with human participation», approved by the Declaration of Helsinki (1964-2013), ICH GCP (1996), EEC Directive № 609 (dated 24.11.1986), orders of the Ministry of Health of Ukraine № 690 dated 23.09.2009, № 944 dated 14.12.2009, № 616 dated 03.08.2012

Physical performance was studied according to the parameters of the bicycle ergometric test PWC170. One-time test of stepwise increasing power for at least 9 minutes [30].

The division of students into medical groups was carried out according to the indicators of the level of functional and reserve capabilities of the cardiovascular system, conducted according to the Rufier index (RI) [1].

Statistical analysis was performed using the application package Statistica-v.10.0. The normality of the distribution was checked by the Kolmogorov-Smirnov test. Almost all of the studied indicators do not have a normal distribution, in this study they are described by the median (Me) and 25, 75 percentiles. The relationships of the studied indicators were analyzed according to Spearman's rank correlation coefficients. To deter-

mine the reliability of differences in indicators used the criterion of Kraskel Wallis. The difference between the indicators was considered probable at $p < 0.05$ [31].

RESULTS AND DISCUSSION

At the beginning of the school year, when dividing students into medical groups for physical education, the medical worker of the educational institution found that according to the Rufier index, the main medical group included 13.5% of adolescents, the preparatory group - 35.4%, the special medical group. groups - 51.1% of students, ie more than half of students. Among the students of the special medical group, there was only one adolescent who had permanent health disorders (0.6% of the total number). Among the students included in the preparatory medical group, there were three adolescents in the recovery period after acute illness (1.8% of the total). The rest of the students were assigned to the preparatory and special medical group only according to the results of the Rufier test (Table 1).

During our further examination of students by recording an electrocardiogram (ECG), no students with clinically pronounced abnormalities on the ECG were found, which gave us grounds to determine physical performance by performing a PWC170 test [30] under ECG control. There are no other contraindications to bicycle ergometry. Three students, who were assigned to the preparatory and special medical groups according to criteria other than the functional and reserve capabilities of the cardiovascular system, were not tested.

It should be noted that there were no statistical differences between the medical groups in terms of body mass index, vital capacity (VC), vital index (VI), heart rate (HR) and blood pressure (BP) (Table 2).

When analyzing the Rufier index, depending on gender, its worst values are observed in girls. Thus, taking into account gender, the main medical group included 10.8% of girls and 16.5% of boys, the preparatory group - 25.8% of girls and 45.9% of boys, the special medical group - 63.4% of girls and 37.6% of boys (Table 1).

Table 1

Distribution of schoolchildren aged 12-14 to medical groups according to the Rufier index, absolute number (percentage)

Contingent	General sample of students			Engaged in sports sections			Not engaged in sports sections		
	All (n=178)	Male (n=85)	Female (n=93)	All (n=38)	Male (n=27)	Female (n=11)	All (n=140)	Male (n=58)	Female (n=82)
Main group	24 (13,5)	14 (16,5)	10 (10,8)	12 (31,6)	9 (33,3)	3 (27,3)	12 (8,6)	5 (8,6)	7 (8,5)
Preparatory group	63 (35,4)	39 (45,9)	24 (25,8)	14 (36,8)	11 (40,7)	3 (27,3)	49 (35,0)	28 (48,3)	21 (25,6)
Special group	91 (51,1)	32 (37,6)	59 (63,4)	12 (31,6)	7 (25,9)	5 (45,4)	79 (56,4)	25 (43,1)	54 (65,9)

Table 2

Comparative characteristics of schoolchildren 12-14 years old, not involved in sports, different medical groups, Me (Q1-Q3)

Indicator	Main group (n=12)	Preparatory group (n=49)	Special group (n=79)
Age, year	12,8±0,5	12,9±0,7	13,0±0,7
Body mass index, kg/m ²	17,2 (16,3-20,0)	18,5 (16,2-19,8)	18,9 (17,4-20,9)
LVC, l	2,38 (2,16-2,44)	2,59 (2,22-2,99)	2,47 (2,14-2,94)
VI, ml/kg	57,7 (53,7-60,5)	58,8 (51,1-63,7)	52,3 (45,2-61,1)
HR, b/mn	83,1 (77,7-88,7)	85,0 (77,6-92,9)	88,7 (82,6-97,6)
BP systolic, mmHg	114,0 (103,0-121,0)	113,0 (101,0-122,0)	116,0 (110,0-126,0)
BP diastolic, mmHg	71,0 (64,0-81,5)	70,0 (64,0-76,0)	72,0 (65,0-79,0)

In connection with the reports that according to the results of Rufier's test, the special medical group also unreasonably includes students who regularly participate in sports sections [11, 23, 25], we analyzed the employment of the studied students in sports sections. It was found that 38 out of 178 schoolchildren regularly participate in sports sections lasting at least one year and often at least three times a week. Analysis of the Rufier index of students involved in sports sections found that 31.6% of students belong to a special medical group, 36.8% of students - preparatory and only 31.6% of students - to the main medical group (Table 1). This indicates the inadequacy of the assessment of the functional reserve of the heart of adolescents after the Rufier test.

The analysis of the levels of functional and reserve capabilities of the cardiovascular system in student-athletes revealed that 25.9% of boys and 45.4% of girls belong to a special medical group according to the Rufier index (Table 1).

The division of students into medical groups, except for boys and girls who play sports, shows the same ratio

of students in groups as in the combined sample: the main medical group included 8.6% of adolescents, the preparatory group – 35.0 %, to a special medical group - 56.4% of students. Similar gender differences were also found: more girls than boys were included in the special medical group (65.9% and 43.1%, respectively). Only 8.6% of schoolchildren aged 12-14 who do not participate in sports sections belong to the main medical group (Table 1). Although, only 31.6% of schoolchildren-athletes belong to the main medical group (Table 1).

According to the results of the PWC170 test, the worst indicators of physical performance were found in schoolchildren of the special medical group against the background of the worst functional reserve of the heart according to the Rufier test. It should be noted that the indicators of physical performance in the range of 25-75 percentiles do not differ in different medical groups. This indicates that in a special medical group there are students with medium and high levels of efficiency (Table 3).

According to the correlation analysis, it was found that in the general sample, adolescents with a higher level

Table 3

Physical capacity and adaptive abilities of schoolchildren 12-14 years old, not engaged in sports, different medical groups, Me (Q1-Q3)

Indicator	Main group (n=12)	Preparatory group (n=46)	Special group (n=78)
PWC ₁₇₀ , kg×m/mn	526,9 (468,0-536,7)	526,7 (446,4-642,0)	456,3 (385,6-550,0)
PWC ₁₇₀ , kg×m×mn/kg	12,5 (12,3-13,4)	12,0 (10,1-14,4)	9,4 □ (8,4-11,0)
Rufier Index, c.u.	5,8 * (4,8-6,2)	8,4 * (7,6-9,2)	12,0 # □ (10,4-13,2)

Notes: # – $p < 0.05$ compared to the main group; □ – $p < 0.05$ in comparison with the preparatory group; * – $p < 0.05$ compared to a special medical group

of functional reserve of the heart, according to the Rufier index, are characterized by higher absolute and relative indicators of physical performance ($p < 0.05$).

In the analysis of correlations separately for groups of schoolchildren who are engaged and not engaged in sports, it is established that in schoolchildren-athletes these interrelations are low and statistically insignificant, and in the group of non-athletes the correspondence of the highest level of functional reserve of heart remains higher. ($p < 0.05$) (Table 4).

This confirms the well-known natural relationships between physical performance and cardiovascular function. However, it does not reflect clear differences in levels of physical performance between different medical groups. Because in each medical group the PWC170 test values fluctuate in a fairly wide range according to the percentile analysis (Table 3). And the presence of a correlation between the PWC170 test and the Rufier test can be explained by the presence of a common factor in their calculation – heart rate.

We analyzed 14 studies by different authors over the past 10 years, with a sample of more than 6,800 students aged 7-17, which divided students into medical groups based on the results of the Ruffier test and the methodology recommended by order of the Ministry of Health of Ukraine and the Ministry of Education and Science of Ukraine dated 20.07.2009 № 518/674 [1]. Summary statistics of these studies show that 66.8% of students belong to the special medical group, 23.4% of students to the preparatory group and only 9.8% of schoolchildren to the main group (Table 5).

The inadmissibility of the Rufier test by paramedics is pointed out [25]. Because there are significant differences in the test results of the same students (autumn and spring) by the average medical staff of the clinic (0% of students in the special medical group) and scientists of the medical university (43% of students in the special medical group). Although there are data [17] obtained from the registration form № 026/u in 5318 schoolchildren, 44.7% belong to the special medical group, 35.4% to the preparatory group, and 19.9% to the main medical group (Table 5).

It is noted that the performance of this test by students at the beginning of the school year, designed for high-class athletes, causes a natural inadequate response of the cardiovascular system [23].

According to the results of the Rufier test in schoolchildren aged 6-17, it is concluded that the test performs

submaximal power of anaerobic-aerobic nature and suggests using it as an indirect criterion of physical performance [15]. Our study also found a reliable association between the Rufier test and the PWC170 test in a pooled sample and a group of non-sports students. But in the group of schoolchildren-athletes such correlation is insignificant (Table 4). At the same time, it is noted that the excellent results of the Rufier test do not always indicate high efficiency, which is also confirmed by us [9].

It is noted that the Rufier test should be used to assess the functional state of athletes and the author's method (30 squats in 30 s), because it gives a higher percentage of compliance with the assessment of physical fitness of students and their ability to perform loads [23, 25].

According to our data, more girls than boys are included in the special medical group (65.9% and 43.1%, respectively). The results of our research are confirmed by a number of authors. In particular, there are data that more girls than boys of the seventh grade (69.5% and 48.7%, respectively) and sixth grade (59.5% and 30.4%, respectively) are included in the special medical group [8]. In the eighth grade, the ratio of girls to boys in the special medical group is almost the same (65.0% and 65.4%, respectively). According to other authors, the special medical group also includes slightly more girls than boys aged 11-12 (97.1% and 89.8%, respectively) (Table 5) [21]. At the same time, according to other authors, the special medical group includes more boys than girls aged 13-14 (100.0% and 76.7%, respectively) (Table 5) [19].

The number of students belonging to a special medical group ranges from 30.4% of students, according to some data [7] – for boys in sixth grade, up to 100% of students, according to other data [19], – for boys 13-14 years. The number of students in the main group also varies in a fairly wide range: from 0% – for boys and girls 11-12 years [21], for schoolchildren 14-16 years [11], for boys 13-14 years [19], to 32, 7% of students – for boys in the seventh grade [7] (Table 5).

According to our data, in the distribution of schoolchildren 12-14 years old who do not play sports, 8.6% of adolescents were included in the main group, 35.0% in the preparatory group, and 56.4% in the special medical group. Similar summary results for schoolchildren 11-15 were obtained by a number of other authors, according to which the main group included 11.7% of adolescents, the preparatory group – 22.0%, the special

Table 4

Spearman's rank correlation coefficients

Indicator	Rufier Index, c.u.		
	all studens	not engaged sports	engaged sports
PWC ₁₇₀ , kg×m/mn	-0,217 *	-0,171	-0,081
PWC ₁₇₀ , kg×m×mn/kg	-0,340 *	-0,329 *	-0,194

Note: * – $p < 0,05$.

Table 5

Summary statistics of the assessment of the functional reserve of the heart and the distribution of schoolchildren aged 7-17 to medical groups, according to the results of the Rufier test, %

Levels of functional reserve of the heart, according to the Rufier index, c.u.	Low ≥15 c.u.	Passable 10-14 c.u.	Medium 7-9 c.u.	Good 4-6 c.u.	High ≤3 c.u.
Medical groups, according to the Rufier index	Special		Preparatory	Main	
Vakulenko L.O. (2015), students in grades 4-11, n = 140	25	47	18	9	1
Vasyukova M.M. (2015), average school age, n = 75	28	40	21,4	9,3	1,3
Gerasimenko S.Yu. (2019), 6th grade girls, n = 64	16,75	42,71	29,35	11,19	-
Gerasimenko S.Yu. (2019), 7th grade girls, n = 64	15,95	53,52	20,32	10,21	-
Gerasimenko S.Yu. (2019), 8th grade girls, n = 62	8,71	56,25	29,61	5,43	-
Gerasimenko S.Yu. (2019), 6th grade boys, n = 64	9,41	20,94	59,91	9,74	-
Gerasimenko S.Yu. (2019), 7th grade boys, n = 64	9,81	38,93	18,61	32,65	-
Gerasimenko S.Yu. (2019), 8th grade boys, n = 62	9,34	56,01	15,74	18,91	-
Zakrevsky AN (2016), schoolchildren aged 14-16 who are not additionally engaged in sports sections, n = 40	62,5	30	7,5	-	-
Kapranov SV (2016), high school students, n = 5318	44,72		35,41	19,87	
Krutsevich T.Yu. (2016), girls 13-14 years, n = 30	53,33	23,33	20	3,3	-
Krutsevich T.Yu. (2016), boys 13-14 years, n = 32	75	25	-	-	-
Lewandowska L. (2015), girls 11-12 years, n = 70	31,43	65,71	2,86	-	-
Lewandowska L. (2015), boys 11-12 years, n = 78	28,21	61,54	10,26	-	-
Melnichuk L.V. (2016), schoolchildren aged 7-17, n = 151	24,66	47,56	21,96	5,13	0,6
Kaminska T.M. (2016), primary school age, n = 201	40,8	45,8	11,9	1,0	0,5
Kaminska TM (2016), average school age, n = 221	19,9	40,7	29,4	10,0	-
Kaminska TM (2016), senior school age, n = 126	17,5	28,3	42,1	10,3	1,6
Novikov EV (2010), schoolchildren aged 14-15, n = 21	43		43	14	
Tyazhka A. V. (2011), students of 2-6 grades of secondary school, n = 81	7,4	40,7	32,1	17,3	2,5
Tyazhka A. V. (2015), students of 5-6 grades of gymnasium, n = 75	28	40	21,4	9,3	1,3
Summary statistics	66,8		23,4	9,8	

medical group – 66.3% of schoolchildren [5, 8, 16, 19, 25] (Table 5).

In our research, among students-athletes, the main group included only 30.4% of adolescents, the preparatory group - 34.0%, the special medical group - 35.7% of students. Similar results were obtained by other authors [11] - according to their data, the main group also includes only 30.0% of students who play sports, but

the preparatory group includes 60.0% of students, and the special medical group 10.0% students (Table 5). The author also notes that there is a significant difference between students-athletes and those who are not additionally engaged in sports sections, in terms of functional reserve of the heart.

It is noted that the response of the cardiovascular system to exercise, according to the Rufier index, in all

adolescents 13 years is below average and is almost no different from students who are engaged in and are not engaged in additional hiking [24].

A number of authors note the low informativeness of the Rufier test, compared with the Martin-Kushelevsky test, and consider it insufficient to determine the functional status of adolescents [10, 23].

When assessing the objectivity of the method of determining and dividing children into medical groups for physical education, it is noted that the most sensitive group to the shortcomings of the educational process are middle school children, especially girls, and more than 30% of secondary school students are unable to perform Rufier's test. specified in the official protocol of medical and pedagogical control over the physical education of schoolchildren [2].

There is also an opinion that generally calls into question the correctness of the use of the Rufier test for school-age children [12].

When evaluating the Rufier test in students in grades 4-11 according to the methods proposed in the Order, a number of caveats are indicated. First of all, it is the lack of gradation by age and gender [4].

Having obtained a significant positive correlation between the results of the sample and the age of the subjects, some authors recommend the use of age-adjusted corrections when determining the Rufier index [9, 12, 28]. This is also confirmed by our review of the results of studies by different authors, which found (sometimes significant) differences in the distribution of students into medical groups based on age and gender (Table 5). Which, obviously, indicates the presence of age and sex characteristics of the functional reserve of the heart in different periods of ontogenesis.

It should be noted that there is virtually no data on the functional reserve of the heart, according to the Rufier index, at specific ages and taking into account the sex of students. In this aspect, attention is drawn to studies and recommendations for differentiated assessment of the Rufier index according to the age of students [12-14, 29]. And the gender differences obtained by us and other authors [8, 19, 21] of the Rufier index actualize the issue of differentiated assessment of the Rufier index according to the sex of schoolchildren.

No less important aspect is the consideration of sports qualifications of schoolchildren. Only a few authors indicate whether schoolchildren-athletes were excluded from the analysis of the Rufier index, and give a comparative description of the functional reserve of the heart of these categories of schoolchildren [11].

In addition, the complexity and ambiguity of the results of various studies in adolescence, apparently, is determined by the individual rate of biological development of students during puberty [32-34] and the school year (increasing student fatigue during the school year) [19, 20]. This should also be taken into account when

planning further studies on the informativeness of the assessment of the functional reserve of the heart based on the results of the Rufier test.

Therefore, we believe that further study is needed on the informativeness of the use of the Rufier test to divide students into medical groups. In the future, the assessment of the functional reserve of the heart will be carried out according to the recommendations of IP Zanevsky on taking into account age in assessing the Rufier index, and study on this basis physical performance and autonomic adaptive capacity of students 12-14 years of different medical groups.

CONCLUSIONS

The established age and gender differences in the functional reserve of the heart of schoolchildren determine the need to develop differentiated approaches to the assessment of the Rufier index.

Physical performance in different medical groups varies in a fairly wide range. The division of students into medical groups according to the Rufier index does not reflect the level of physical performance of students and, accordingly, their real adaptive capabilities.

Connection of work with scientific programs, plans, topics. This study was performed in the framework of research «Development of models of rehabilitation effects in physical therapy and occupational therapy and evaluation of their effectiveness from the standpoint of evidence-based medicine» (№ 0119U001190).

REFERENCES

1. [On ensuring medical and pedagogical control over the physical education of students in secondary schools]: Order of the Ministry of Health of Ukraine and the Ministry of Education and Science of Ukraine N 518/674 of 20.07.2009 [in Ukrainian].
View at: Access mode: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0773-09>
2. Kozyarin IP, Ivakhno OP. [Adequacy of methods for determining the level of physical health of children for physical education]. Collection of scientific works of Shupik NMAPE. Kyiv, 2016; 26: 40-4. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://lib.inmeds.com.ua:8080/jspui/bitstream/lib/1050/1/zbornikNMAPO26-41-45.pdf>
3. Borisova Yu.Yu. [Assessment of the level of physical health of schoolchildren aged 7-17]. Scientific journal of the Dragomanov National Pedagogical University. Series 15: Scientific and pedagogical problems of physical culture (physical culture and sports). 2016; 10(80): 30-3. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://enpuir.npu.edu.ua/handle/123456789/20028>
4. Vakulenko LO, Vakulenko DV, Barladin OR, Brave SZ, Bobelyak NP [Informative value of Rufier's functional test in the formation of harmoniously developed youth]. Materials of the regional scientific-methodical seminar

- “Olympic movement in Western Ukraine - past and present”. Ternopil: TYPE, 2015: 19-21. [in Ukrainian].
5. Vasyukova M.M., Kazakova L.N., Antoshkina A.N., Kazmirchuk O.N., Korvach Kh.O. [Features of health of pupils of secondary school age in the gymnasium of Kyiv]. The world of science and innovation. 2015; 13 (2): 36-43. [in Russian].
View at: URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25118143>
6. Gerasimenko S.Yu., Zhigulyova EO. [Assessment of the level of physical fitness of 8th grade students]. Bulletin of Kamyanets-Podilsky Ogiienko National University. Physical education, sports and human health. 2019; 12. 7-10. [in Ukrainian].
View at: Publisher Site: <http://visnyk-sport.kpnu.edu.ua/article/view/178559>
7. Gerasimenko SY, Lukyanchenko MI. [Assessment of the level of physical fitness of 7th grade students]. Scientific journal of the Drahomanov National Pedagogical University. Series 15: Scientific and pedagogical problems of physical culture (physical culture and sports). 2019; 5K(113): 64-8. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://enpuir.npu.edu.ua/handle/123456789/26870>
8. Gerasimenko SY, Lukyanchenko EV. [Assessment of the level of physical fitness of 6th grade students]. Actual problems of medical and biological support of physical culture, sports and physical rehabilitation. V International Scientific and Practical Internet Conference April 25-26, 2019. Kharkiv: KhDAFK, 2019: 19-24. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://reposit.uni-sport.edu.ua/bitstream/handle/78787878/1669/%D0%97%D0%B1%D1%96%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA%20%D0%A1%D0%9C%D0%91%D0%90%202019%20%D0%9F%D1%83%D1%82%D1%80%D0%BE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Guseva A.A. [Methodological approaches to the assessment of Ruffier's test in young athletes]. Physical education in prevention, treatment and rehabilitation. 2006; 1 (16): 44-6. [in Russian].
10. Evdokimov EI, Golets VO. [Informativeness of multifactorial rapid diagnostics and Ruffier's test in determining the functional state of schoolchildren]. Bulletin of Zaporizhzhia National University. Physical education and sports. 2010; 1 (3): 88-91. [in Ukrainian].
View at: URL: <https://web.znu.edu.ua/herald/issues/2010/Fzv-1-2010/088-89.pdf>
11. Zakrevsky A.N., Karapetyan O.Yu., Timchenko A.N., Smal V.A. [The role of remote ECG-counseling and pulse oximetry in a comprehensive assessment of the health status of schoolchildren]. Problems of modern education. Collection of scientific and methodical works. Kharkiv: Karazin KhNU, 2016; Issue 7: 68-75. [in Russian].
View at: URL: http://dspace.univer.kharkov.ua/bitstream/123456789/12552/2/Problemy_7_2016.pdf
12. Zanevsky IP. [Ruffier's test as a method of diagnosing the functional state of the cardiovascular system of school-age children]. Sports science of Ukraine. 2011; 3: 71-92. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://repository.ldufk.edu.ua/bitstream/34606048/17192/1/%D0%97%D0%B0%D0%B0%D0%B5%D0%B2%D1%81%D1%8C%D0%BA%D0%B8%D0%B9%20%D0%86%D0%B3%D0%BE%D1%80.pdf>
13. Zanevsky I., Sanotska N. [Ruffier's test and the rate of resting heart rate]. Sports science of Ukraine. 2014; (59): 43-50. [in Ukrainian].
View at: Publisher Site: <http://sportscience.ldufk.edu.ua/index.php/snu/article/view/212>
14. Zanevsky IP, Zanevskaya LG. [Ruffier test model taking into account an age of the patient]. Theory and methods of physical education. 2013; 2: 17-27. [in Ukrainian]. DOI: 10.17309/tmfv.2013.2.1013
View at: Publisher Site: <http://dx.doi.org/10.17309/tmfv.2013.2.1013>
ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/276346514_Model_probi_Ruf'e_z_urahuvannam_viku_pacienta
15. Kalinichenko I.O. [The use of the Ruffier test to assess the functional capabilities of the body of children 6-17 years]. Science and education. 2012; 4 (CVV): 82-86. [in Ukrainian].
View at: URL: https://scholar.google.com.ua/citations?user=-qWMKyoAAAAJ&hl=ru#d=gs_md_cita-d&u=%2Fcitations%3Fview_op%3Dview_citation%26hl%3Dru%26user%3D-qWMKyoAAAAJ%26citation_for_view%3D-qWMKyoAAAAJ%3AP-5F9QuxV20EC%26tzm%3D-120
16. Kaminska TM. [Optimization of the system of preventive measures and rehabilitation of health disorders of school-age children]. The dissertation of the doctor of medical sciences. Kyiv. 2016. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://ipag-kiev.org.ua/wp-content/uploads/2016/09/Dis-Kamin.pdf>
17. Kapranov S.V., Kapranova Yu.S., Tarabtsev D.V. [Development of an automated system for monitoring indicators of the functional state of the cardiovascular system of children and adolescents]. In: Sanitary and Epidemiological Service of the Republic of Belarus: history, topical problems at the present stage and development prospects. Proceedings of the Intern. scientific-practical conf. Health and the Environment, dedicated to the 90th anniversary of the sanitary-epidemiological service of the Republic of Belarus, Minsk, October 28. 2016: in 2 volumes / editorial board: N.P. Zhukova [and others]. Minsk: BSMU, 2016. Vol. 1: 284-288. [in Russian].
View at: URL: <http://rep.bsmu.by/handle/BSMU/12438>
18. Klapchuk V. [Physical condition of man: the search for diagnostic criteria]. Actual problems of physical education of students in the conditions of credit-modular system of training: materials of the All-Ukrainian scientific and practical conference on April 10-14, 2014 Dnipropetrovsk, 2014: 211-216. [in Ukrainian].

- View at: URL: http://www.dnu.dp.ua/docs/zbirniki/sport/program_56d5c9b4cee79.pdf
19. Krutsevich T., Napadiy A., Imas T., Trachuk S. [Dynamics of adaptation-reserve capabilities of schoolchildren aged 13-14 years during the school year]. *Sports Bulletin of the Dnieper*. 2016; 1. 182-186. [in Ukrainian]. View at: URL: <http://reposit.uni-sport.edu.ua/handle/787878787/1009>
 20. Kurtova G.Yu., Lyapin VP, Babarika YR, Grishko LG. [Monitoring the health of schoolchildren aged 14-15 in the educational process]. *Bulletin of Chernihiv National Pedagogical University. Series: Pedagogical sciences. Physical education and sports*. 2015; 129 (3): 191-194. [in Ukrainian]. View at: URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vchdpun_2015_129\(3\)_46](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vchdpun_2015_129(3)_46)
 21. Lewandowska L. [The influence of individualization of the process of physical education on the efficiency of school-age children]. *Physical education, sports and health culture in modern society*. 2015; 4 (32). 94-98. [in Ukrainian]. View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Fvs_2015_4_25
 22. Melnichuk LV, Bandura SM. [Predicting the risks of reduced tolerance to physical activity during preventive examinations of schoolchildren]. *Medical forum*. 2016; (07): 119-121. [in Ukrainian]. View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2017_21_1_19
 23. Mikhalyuk E.L. The use of the Ruffier test to determine the medical group for schoolchildren: unjustified hopes. *Вісник Bulletin of Chernihiv National Pedagogical University. Series: Pedagogical sciences. Physical education and sports*. 2013; 107 (2). 63-66. [in Russian].
 24. Mulik KV, Grinyova TI. [The impact of hiking on the health of 13-year-olds]. *Pedagogy, psychology and medical and biological problems of physical education and sports*. 2015; 8: 40-45. [in Ukrainian]. DOI: 10.15561/18189172.2015.0806 View at: Publisher Site: <https://sportpedagogy.org.ua/index.php/PPS/article/view/134> ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/282523290_Influence_of_hiking_trainings_on_13_years_old_adolescents_health URL: <https://www.sportpedagogy.org.ua/html/journal/2015-08/html-en/15mkvoah.html>
 25. Novikov E.V., Tkach Ya.I. Ruffier's test in schoolchildren: first results. *Current issues of pharmaceutical and medical science and practice*. 2010; 23 (4): 94-95. [in Russian].
 26. Tyazhka OV, Kazakova LM, Stroy OA, Vasyukova MM, Antoshkina AM, Vakulovskaya TO, Trofimenko TO Modern features of the state of health of young and middle-aged children in Kyiv. *Child health*. 2011; (4): 31. [in Ukrainian]. View at: Publisher Site: <http://www.mif-ua.com/archive/article/23035>
 27. Tyazhka OV, Kazakova LM, Vasyukova MM, Antoshkina AM. [The state of health of middle school students in one of the gymnasiums in Kyiv]. *Neonatology, surgery and perinatal medicine*. 2015; 1 (5): 19-23. [in Ukrainian]. View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nkhpm_2015_5_1_5
 28. Shakhnazaryan K.E., Vladova V.S. [The significance of age-related heart rate indicators for taking into account the results of the Ruffier test in students]. *Sports medicine, physical therapy and valeology*. 2012; 113-115. [in Russian]
 29. Zanevskyy I., Janiszewska R., Zanevska L. Validity of Ruffier test in evaluation of resistance to the physical effort. *Journal of Testing and Evaluation*. 2017; 45(6): 2193-2199. DOI: 10.1520/JTE20160380 View at: Publisher Site: https://www.astm.org/DIGITAL_LIBRARY/JOURNALS/TESTEVAL/PAGES/JTE20160380.htm ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/314084013_VValidity_of_Ruffier_Test_in_Evaluation_of_Resistance_to_the_Physical_Effort
 30. Council of Europe. Committee of Experts on Sports Research. EUROFIT: Handbook for the EUROFIT tests of Physical Fitness. Rome, Strasbourg. 1987
 31. Glantz S. Biomedical statistics. Moscow: Practice. 1999. 459 p. [in Russian]. View at: URL: http://www.endosurgery.od.ua/uploaded/site321_Medico-biologicheskaya_statistika.PDF
 32. Sitovsky AM. [Annual dynamics of physical working capacity of 7th grade girls in the conditions of three physical education lessons depending on the pace of their biological development]. *Modern health and rehabilitation technologies*. 2005; 1: 146-150. [in Ukrainian]. View at: URL: https://uu.edu.ua/upload/Nauka/Electronni_naukovi_vidannya/Suchasni_ozdorovcho_reabilitaciyini_tehnologii/SORT_1_2005.pdf
 33. Sitovsky A. [Physical performance of adolescents in terms of differentiated physical education, taking into account the rate of their biological maturation]. *Physical education, sports and health culture in modern society*. 2009; 1 (5): 61-65. [in Ukrainian]. View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Fvs_2009_1_18
 34. Sitovsky A.M., Chizhik V.V. [Dynamics of indicators of physical development of adolescents in the process of their biological maturation]. *Modern health and rehabilitation technologies*. 2011; 6: 82-90. [in Ukrainian]. View at: URL: https://uu.edu.ua/upload/Nauka/Electronni_naukovi_vidannya/Suchasni_ozdorovcho_reabilitaciyini_tehnologii/SORT_6_2011.pdf

Article history

Received: 10.01.2021

Revision requested: 18.02.2021

Revision received: 15.03.2021

Accepted: 29.03.2021

Published: 31.03.2021

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ФУНКЦІОНАЛЬНОГО РЕЗЕРВУ СЕРЦЯ
ТА ФІЗИЧНОЇ ПРАЦЕЗДАТНОСТІ ПІДЛІТКІВ СПЕЦІАЛЬНОЇ МЕДИЧНОЇ ГРУПИ**

Сітовський А.М., Андрійчук О.Я., Усова О.В., Якобсон О.О., Ульяницька Н.Я., Цюпак Т.Є.

Волинський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк, Україна

andriy.sitovskiy@gmail.com;

Актуальність. Найбільш поширеними індикаторами оцінки ефективності здоров'язберігаючих технологій є показники діяльності серцево-судинної системи підлітків. На сьогодні відомостей кількісного обґрунтування інформативності, прогностичної й діагностичної значимості таких показників у процесі корекції функціонально-резервних можливостей серцево-судинної системи підлітків недостатньо.

Мета: визначити рівні функціонального резерву серця за даними індексу Руф'є та вивчити фізичну працездатність школярів 12-14 років різних медичних груп.

Матеріали та методи. Обстежено 178 школярів сьомих-восьмих класів віком 12-14 років (85 хлопців та 93 дівчини). Усі учні добровільно взяли участь у цьому експерименті, а також було отримано письмову згоду їх батьків. Фізична працездатність досліджувалась за показниками велоергометричної проби PWC170. Розподіл учнів на медичні групи проводили за показниками рівня функціонально-резервних можливостей серцево-судинної системи, що проводять за індексом Руф'є. Статистичний аналіз результатів здійснювався за допомогою пакету прикладних програм Statistica-V.10.0. Нормальність розподілу перевіряли за критерієм Колмогорова-Смірнова. Досліджувані показники описані медіаною (Me) і 25, 75 перцентилями. Взаємозв'язки досліджуваних показників аналізували за коефіцієнтами рангової кореляції Спірмена. Для визначення достовірності відмінностей показників застосовували критерій Краскала Уолліса.

Результати. До основної групи увійшло 13,5 % підлітків, до підготовчої групи – 35,4 %, до спеціальної медичної групи – 51,1 % школярів. Серед учнів-спортсменів 25,9 % хлопців й 45,4 % дівчат відносяться до спеціальної медичної групи. У школярів-спортсменів кореляційні взаємозв'язки показників індексу Руф'є й тесту PWC 170 низькі й статистично незначимі. Показники фізичної працездатності в межах 25-75 перцентилів практично не відрізняються у різних медичних групах. Це свідчить про те, що у спеціальній медичній групі є школярі з середнім і високим рівнем фізичної працездатності.

Висновки. Встановлені вікові й статеві відмінності функціонального резерву серця школярів визначають необхідність розробки диференційованих підходів до оцінки індексу Руф'є. Фізична працездатність в різних медичних групах варіює у досить широких діапазонах. Розподіл учнів на медичні групи за показниками індексу Руф'є не відображає рівня фізичної працездатності школярів та, відповідно, їх реальних адаптивних можливостей. Необхідні подальші вивчення інформативності застосування проби Руф'є для розподілу школярів на медичні групи.

Ключові слова: підлітки, проба Руф'є, фізична працездатність, медичні групи.

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕЗЕРВА СЕРДЦА И ФИЗИЧЕСКОЙ
РАБОТОСПОСОБНОСТИ ПОДРОСТКОВ СПЕЦИАЛЬНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ГРУППЫ**

Ситовский А.М., Андрейчук Я., Усова А.В., Якобсон А.А., Ульяницкая Н.Я., Цюпак Т.Е.

Волинский национальный университет имени Леси Украинки, Луцк, Украина

andriy.sitovskiy@gmail.com;

Актуальность. Наиболее распространенными индикаторами оценки эффективности здоровьесберегающих технологий являются показатели деятельности сердечно-сосудистой системы подростков. Сегодня сведений количественного обоснования информативности, прогностической и диагностической значимости таких показателей в процессе коррекции функционально-резервных возможностей сердечно-сосудистой системы подростков недостаточно.

Цель: определить уровни функционального резерва сердца по данным индекса Руфье и изучить физическую работоспособность школьников 12-14 лет различных медицинских групп.

Материалы и методы. Обследовано 178 школьников седьмых-восьмых классов в возрасте 12-14 лет (85 мальчиков и 93 девочки). Все ученики добровольно приняли участие в этом эксперименте, а также было получено письменное согласие их родителей. Физическая работоспособность исследовалась по показателям велоэргометрической пробы PWC170. Распределение учащихся на медицинские группы проводили по показателям уровня функционально-резервных возможностей сердечно-сосудистой системы, проводимых по индексу Руфье. Статистический анализ результатов осуществлялся с помощью пакета прикладных программ Statistica-V.10.0. Нормальность распределения проверяли по критерию Колмогорова-Смирнова. Исследуемые показатели описаны медианой (Me) и 25, 75 перцентилями. Взаимосвязи исследуемых показателей анализировали по коэффициентам ранговой корреляции Спирмена. Для определения достоверности различий показателей применяли критерий Краскала Уоллиса.

Результаты. В основную группу вошло 13,5% подростков, в подготовительную группу – 35,4%, в специальную медицинскую группу – 51,1% школьников. Среди учеников-спортсменов 25,9% юношей и 45,4% девушек относятся к специальной медицинской группе. У школьников-спортсменов корреляционные взаимосвязи показателей индекса Руфье и теста PWC 170 низкие и статистически незначимы. Показатели физической работоспособности в пределах 25-75 перцентилей практически не

отличаются в различных медицинских группах. Это свидетельствует о том, что в специальной медицинской группе есть школьники с средним и высоким уровнем физической работоспособности.

Выводы. Установленные возрастные и половые различия функционального резерва сердца школьников определяют необходимость разработки дифференцированных подходов к оценке индекса Руфье. Физическая работоспособность в различных медицинских группах варьирует в достаточно широких диапазонах. Распределение учащихся на медицинские группы по показателям индекса Руфье не отражает уровня физической работоспособности школьников и, соответственно, их реальных адаптивных возможностей. Необходимы дальнейшие исследования информативности применения пробы Руфье для распределения школьников на медицинские группы.

Ключевые слова: подростки, проба Руфье, физическая работоспособность, медицинские группы.

HYGIENIC RECOMMENDATIONS FOR SAVING HEALTH OF CHILDREN
IN THE QUARANTINE*Hozak S.V.* <https://orcid.org/0000-0002-6379-7331>*Stankevych T.V.* <https://orcid.org/0000-0003-3998-3748>*Yelizarova O.T.* <https://orcid.org/0000-0002-2860-9059>*Parats A.N.* <https://orcid.org/0000-0003-4301-5336>*State Institution "O.M. Marzieiev Institute for Public Health of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine*

school_health@meta.ua

Relevance. The introduction of the quarantine measures in Ukraine during COVID-19 pandemic radically changed all aspects of children's lifestyle. Restricting of social contacts and travelling, introduction of distance education are typical manifestations of quarantine measures' application to schoolchildren. However, social distancing, the effects of the negative factors of distance education and prolonged stress can threaten the health of school-age children both at the moment and have delayed consequences. The assistance of the optimal adaptation process to new conditions decreases risks to children's health at various levels: physical, psychical, social

Objective. Development of hygienic recommendations for saving the health of schoolchildren during the quarantine.

Methods. Structural-logical and analytical methods were used, based on our own 20-year research and research by other authors, WHO and CDC recommendations. The results of our research before and during the quarantine have been presented.

Results. During the introduction of quarantine measures, the health of a schoolchild is formed under the influence of a complex of factors, among which a significant place is occupied by controlled ones: properly organized learning process, daily routine, including diet and drinking regime, ensuring sufficient physical activity and night rest. To ensure the optimal course of adaptation of children in conditions of social isolation, it is also necessary to take into account the individual characteristics of children, the peculiarities of the circadian rhythm of schoolchildren of different age groups, their physical and mental development.

Conclusions. Maintaining and strengthening the health of children in quarantine depends on the individual characteristics of development and health of the child, the optimal organization of distance learning, ensuring sufficient duration of physical activity, sleep, screen time, optimization of nutrition and water consumption schedule. The promotion of health maintenance and specific recommendations would help reduce the negative influence of the quarantine measures on the formation of children's health.

Keywords: hygienic recommendations, saving children's health, the quarantine, organizing lifestyle, distance education

Relevance. Social isolation, lockdown, quarantine – these words have confidently entered the lexicon, this is a new reality. The characteristic manifestations of the life of the population, including children, in the new conditions include the restriction of social contacts, restrictions on movement, distance learning. The optimal course of adaptation to new conditions reduces the risk of health problems in children at different levels: physical, mental, social [1].

During the spread of infectious disease in the population, the risk of damage to all segments of the population, including children and adolescents, therefore, as a preventive measure, school closure is considered as one of the influencing factors [2, 3].

Forced stay at home during quarantine restrictions, or observation, dramatically changes all aspects of school life. First of all, motor activity is significantly reduced. It is known that motor inactivity, the so-called «sedentary behavior», is a separate independent risk factor for children's health disorders [4, 5]. Our research in previous years found that a sedentary lifestyle is characteristic of 75.6% of modern urban middle school students, even in normal conditions. On average, a modern urban middle school student spends about 11 hours a day sitting or ly-

ing down (except for a night's sleep). Girls are 2.5 times more likely to lead a sedentary lifestyle than boys [6].

Our research has shown that the probability of developing diseases in children increases by 20% at low levels of physical activity. The probability of multiple pathology (more than three diseases) increases in children and adolescents almost 4 times with a low level of physical activity, and the probability of neurosis - 2.5 times. Students who have a screen time of more than two hours a day are also at risk of deteriorating health. According to our data, 65.8% of such students. This increases the likelihood of a decrease in performance by 45% [4, 7].

Living in new conditions requires special attention to the prevention of posture disorders in children [8, 9]. Musculoskeletal disorders occur during periods of intensive growth and development of the body in conditions of high levels of static, sensory and information load, low level of general motor activity, unbalanced diet, lack of special exercises to strengthen corset muscles, inconsistency of physical activity with morpho-functional features and the degree of individual fitness of the child's body; inconsistencies in the child's workplace growth and other factors. We have established a link between

the formation of posture disorders in schoolchildren and decreased vital capacity of the lungs, deterioration of the visual analyzer, central and autonomic nervous system, cardiovascular system, digestive system, decreased mental capacity [11-14].

Quarantine restrictive measures, or observation, involve the maximum restriction of direct «live» social contacts. Studies conducted by scientists before the COVID-19 pandemic show that in conditions of deprivation in children and young people there is an increase in anxiety, hyperactivity, aggression, as well as various types of addiction (from sweets, alcohol and others) [15]. The results of our own research showed that adaptation to new living conditions was easier and faster for people who were able to create and maintain a virtual circle of communication and received support from teachers [16].

Objective: Development of hygienic recommendations for saving the health of schoolchildren during the quarantine.

MATERIALS AND METHODS

When writing the recommendations, structural-logical and analytical methods were used, based on the use of our own 20-year research on the formation of the health of children and adolescents under the influence of vital factors, including during the COVID-19 pandemic. We also used research by other authors, materials from WHO, CDC.

RESULTS AND DISCUSSION

Most of the factors of schoolchildren's life, such as daily routine, living conditions, organization of education, organization and quality of food, and others, are controlled factors. That is, the impact on these determinants and the optimization of these aspects of life have a positive effect on the processes of maintaining and strengthening the health of children. A thorough study of certain factors and their impact on the formation of the health of school-age children during quarantine restrictive measures has allowed us to identify the main ones that need the most attention.

During the period of strict quarantine, the only possible form of schooling for students is distance learning. During this form of learning, communication between the subjects of distance learning during training and correctional and developmental classes, consultations is provided by the transmission of video, audio, graphic and textual information in synchronous or asynchronous mode. The procedure for organizing the educational process by distance learning is determined according to the orders of the Ministry of Education and Science of Ukraine «On approval of the Regulation on distance learning» from 25.04.2013 № 466 and «On approval of the Regulation on the institutional form of general secondary education» 23.04.2019 №536, as well as changes

to these orders, which are reflected in the order «Some issues of distance learning» from 08.09.2020 № 1115 [17]. Also, when organizing the educational process, it is necessary to follow the Sanitary Regulations for general secondary education institutions, approved by the Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 25.09.2020 № 2205 and registered in the Ministry of Justice of Ukraine on 10.11.2020 for № 1111/35394 [18].

The organization of the process of teaching a schoolchild at home consists of the equipment of the workplace (educational furniture, digital devices, lighting), the duration and form of education, types of extracurricular activities, including physical activity.

The equipment of the place for the child must correspond to the anthropometric parameters of the schoolchild [19]. You can determine the conformity of the desktop to the child's height visually. With the optimal posture of the child:

- 2/3 of the length of the thigh are on the seat;
- the child's feet are on the floor or stand, the angle at the knee joint is straight;
- the front edge of the chair goes about 5 cm below the table surface, with the child's palm between the torso and the front edge of the table;
- the table surface is 2-6 cm above the elbow of the lowered arm of the sitting child.

If these conditions are met, the child's posture during training will be stable, the angle of the body is favorable, the shoulders are symmetrically located. This pose does not compress the internal organs and large vessels, while maintaining the required safe distance from the eyes to the table surface [19].

Given the growth process of the child during school, the most optimal are adjustable furniture. If it is not possible to buy a special adjustable desk, it is necessary to optimize the workplace: with a high chair on the floor you need to install a solid, stable footrest, and with a high table on the chair to put a hard pillow. To ensure that the child's eyes and body do not strain during reading, it is necessary to provide a perpendicular from the eyes to the book with a special book stand or tilt the table cover.

The format of using electronic devices during distance learning depends on the duration of quarantine and the age group of students. If the quarantine lasts no more than a week, it is acceptable to receive tasks through social networks and perform them yourself [20]. With a longer duration of quarantine, the introduction of interactive learning is necessary.

If a child of primary school age does not have a computer, the acquisition of new skills can cause an additional reaction to the stress that is observed due to unusual learning conditions. Therefore, in the first stage, you can use a regular tablet or smartphone when communicating with the teacher, as conference facilities such as Zoom, Discord, Skype, Hangouts, etc. do not require

special equipment. Having a personal computer for a child of any age is especially important when the school uses e-learning systems (HUMAN, MOODLE or others). Each e-learning platform publishes the technical requirements of the means of communication, and these requirements must be taken into account when choosing an e-device. When using smartphones during distance learning, it is necessary to take into account such shortcomings in their work as small screen size, instability of Internet connection, high risk of disabling video conferencing during a phone call [21]. It is important to mark the place for distance learning of schoolchildren in large families or small apartments physically, for example, with colored tape. A dedicated place for studying gives a feeling of control and security. At the same time during studying it is desirable to use earphones which have function of suppression of noise.

Emphasis should be placed on the following general conditions for the use of digital electronic devices during distance learning:

- the place of employment should be comfortable for the child and separated from the activities of other family members;
- the webcam should be at eye level;
- when using electronic devices outside the child should not lead to curvature of the spine and compression of internal organs;
- every 15-25 minutes of training it is necessary to take breaks for physical activity;
- electronic devices must meet the conditions of mental and physical development of the schoolchild with a diagonal of video monitors (screens) not less than 35.56 cm (14 inches);
- during video conferences it is necessary to allocate time for communication of schoolchildren among themselves.

For optimal functioning of musculoskeletal and visual analyzers and harmonious mental development of the child, it is necessary to provide a favorable light regime and color scheme in the room and workplace. The walls of light tones of yellow, pink, green colors have the most harmonious influence on the psychoemotional state of the child; furniture – the color of light natural wood. At the same time the materials creating a matte surface are used. For right-handed children, the light from the window and table lamp should fall on the left side, for left-handed children – on the right. Preference should be given to lamps that provide a sufficient level and uniformity of lighting throughout the work surface, the absence of flicker and acoustic noise [19].

Wet cleaning should be carried out regularly (preferably daily) and the apartment should be ventilated at least three times a day: in the morning, in the afternoon and half an hour before bedtime, including to reduce static electricity generated by e-learning tools [22].

Given the peculiarities of the biorhythmological ac-

tivity of the organism at different ages, the educational process for better performance is desirable to begin in grades 1-4 at 8: 30-9: 00; grades 5-9 – at 9: 30-10: 00; 10-11 – 10: 00-10: 30. According to the methodological recommendations of the Ministry of Education and Science of Ukraine, synchronous classes should start at 10 am and end at 1 pm [23]. The duration of synchronous classes (audio, video conferencing or real-time chats) should be up to 30% of the total learning process. In other countries, training by video conferencing is recommended within 1-2 hours per day, which does not contradict domestic standards [24]. If children study according to the traditional classroom system, it is important not to exceed for 1st grade students 20 lessons per week, 2nd – 21; 3rd – 22; 4th – 23; 5th – 27; 6th – 28; 7-9th – 30; 10-11th – 32 [4, 25, 26]. Exceeding the number of school hours above these limits leads to an increase in the probability of a high level of severe fatigue in schoolchildren by 1.3-3.5 times.

To reduce the risk of visual analyzer depletion and severe fatigue, it is recommended to reduce the duration of lessons using electronic means to 25-30 minutes, as the duration of the screen time should not exceed 2 hours per day [27]. However, our research has shown that the duration of the educational process during quarantine in April-May 2020 with the use of electronic means has not changed [28].

For children of primary and secondary school age, the maximum duration of homework is recommended to be 1 hour per day, for students of senior school age – 1.5 hours [4]. The probability of developing severe fatigue in children when these levels are exceeded is 2.2 times higher.

Active rest and physical activity. During distance learning, special attention should be paid to sufficient Physical activity (PA), as insufficient levels of PA are associated with the risk of cardiovascular disease, diabetes, diseases of the musculoskeletal system, injuries, mental disorders (depression, anxiety). To prevent mental fatigue and increase the body's resistance to disease during distance learning every 15-20 minutes of continuous sitting, it is necessary to take breaks to change the type of activity from inactive to active [10]. The so-called «small», but quite significant, forms of physical activity are important for children's health: morning gymnastics, sports breaks during study or leisure, free movement and change of posture during lessons or homework [29-31]. In particular, you can use the exercises that are given in the guidelines «Healthy student» [32]. In addition, if the child is healthy, not in self-isolation, it is recommended to walk 1.5-2 hours a day in the fresh air, or engage in other types of physical activity. According to WHO recommendations [33] and CDC [34], daily physical activity from moderate to high intensity with a total duration of at least 60 minutes/day is recommended for children and adolescents. Moderate or intense aerobic exercise (brisk walking, running, cycling, rollerblading, etc.) is recom-

mended daily, and strength training to strengthen muscles and bones – at least 3 days a week (Table 1). To prevent injury and overtraining, children should slowly increase their level of physical activity and change their activities.

Physical activity is also associated with subjective indicators of health and well-being. Our research showed that adolescents who consider themselves happy are engaged in 1.5-2.0 times longer sports of moderate intensity than students who feel less happy ($p < 0.05$) [35]. Therefore, it is necessary to help children remain physically active both in everyday life and in such special periods as quarantine.

However, both children and parents are often unable to properly assess whether a child has enough PA. According to our data, only 17% of children and 22% of parents believe that children lack PA, although in fact 41% of such children.

Our research has shown that the daily duration of total physical activity of children and adolescents should be at least 4.5 hours a day, and for classes of medium and high intensity, such as running, brisk walking, dancing, moving games, cycling, rollerblading, general physical training, strength exercises and most sports – it is necessary to allocate 50-60 minutes a day for boys, 40-50 minutes for girls; or 1.5 hours of sports 4 times a week for

boys and 3 times for girls [4, 28]. The average duration of general PA of children during quarantine in April-May 2020. was about 2.5 hours/day at a rate of 4.5-5.5 hours, regardless of age and sex of children, ie twice less. It is safe to predict that long-term quarantine will adversely affect children's health.

According to our data, during distance learning only 63.6±1.6% of respondents noted that in their educational institutions were organized physical education classes or provided recommendations for physical education (PE) in one form or another. Moreover, for 28.0% of schoolchildren, the organization of PE during quarantine was limited only by oral or written recommendations of a physical education teacher. However, there is a great interest of children in the project «Rukhanka», which during the quarantine was introduced as part of the «All-Ukrainian School Online». Thus, 59.2% of schoolchildren, regardless of place of residence ($\chi^2=1.7$; $p>0.8$), performed physical exercises in this format. This indicates the interest of children in physical exercises in the form of videos, especially emotionally colored, which should be used to increase physical activity not only during quarantine, but also during the normal learning process at school [28].

It is advisable for parents to engage in physical activity with their children at least once a day. These can

Table 1

Types of exercise for children and adolescents, according to the recommendations Centers for Disease Control and Prevention
(<https://www.cdc.gov/healthyyouth/index.htm>)

Type PA	Age groups	
	6-11 years	12-18 years
Aerobic exercise moderate type	• Fast walking • Cycling (mostly on flat surfaces at moderate speeds) • Active recreation, such as hiking, scootering without a motor, swimming • Play active games, such as baseball	• Fast walking • Cycling (mostly on flat surfaces) • Active recreation, such as kayaking, hiking, swimming • Housework and gardening • Play active games, such as baseball
Aerobic exercise intensive type	• Running • Fast cycling • Active running-related games, such as football • Jump rope • Cross-country skiing • Initial level of martial arts • Sports such as football, basketball, swimming and tennis • Energetic dances	• Running • Fast cycling • Active running-related games, such as football • Jump rope • Cross-country skiing • Martial arts • Sports such as football, basketball, swimming and tennis • Energetic dances
Exercises for muscle strengthening	• Tug of war • Resistance exercises using body weight or resistance bands • Climbing on a rope or wood • Climbing the playground equipment • Some forms of yoga	• Tug of war • Resistance exercises using body weights, resistance bands and exercise machines • Some forms of yoga
Exercises for bone strengthening	• Running • Sports that involve jumping or rapidly changing direction	• Jump rope • Running • Sports that involve jumping or rapidly changing direction

be activities at home - dancing, stretching exercises, strength exercises, or outdoors – moving games, cycling or rollerblading. We found a positive effect of joint physical activity of parents and children on children's health: a higher level of health is inherent in children who, together with their parents, engage in physical activity as in the fresh air ($\chi^2=7.96$; $p<0.05$), and at home ($\chi^2 = 6.47$; $p < 0.05$) [4, 37].

According to our survey (2017-2018), 66% of parents indicated that at least once in the last 30 days engaged in physical activity with the child in the fresh air (joint games, hiking, etc.). Parents pay much less attention to joint PA at home – only 29% indicated that they had exercised with their child at home at least once in the last 7 days [4].

Our research has shown that the personal example of parents regarding PA classes also has a positive effect on children's PA. Children and adolescents are more likely to attend sports sections or dance clubs if at least one of them does sports at home or in a fitness center ($p<0.05-0.001$). Similar results were also obtained in the works of other authors [38-40].

Food and drinking. During quarantine, an important aspect of the daily routine is nutrition and drinking. It is important to provide children with a complete diet, which includes vegetables, fruits, meat, fish and seafood, cereals, eggs, dairy products, as well as the optimal mode of multiplicity of meals [22]. The diet of children can be individual depending on living and learning conditions, health status, physical activity. It is desirable that the intervals between meals do not exceed 3-3.5 hours [41]. According to our data, the actual diet of modern children and adolescents is characterized by insufficient consumption of products such as fish and seafood in 60% of students, meat, butter, eggs and milk – 22%, dairy products – 13%, fruit – 9% of students [41, 42]. At the same time, 45% of schoolchildren consume «unhealthy» products every day: sweet carbonated drinks, mayonnaise and ketchup – 57%, sausages – 74%, chips and crackers – 21% of schoolchildren [41]. During the period from 5th to 9th grade, the number of children with poor nutrition increases 2.5 times.

It has been found that schoolchildren with optimal nutrition make fewer mistakes during mental work. With poor nutrition, the probability of severe fatigue in schoolchildren is 30% higher than with satisfactory.

Water consumption should be balanced with its excretion from the body. Water deficiency is especially dangerous during the challenges that the body receives from the adverse effects of a polluted environment, intense physical activity and, especially, during illness [43]. Insufficient water consumption also reduces the cognitive functions of schoolchildren [44]. Total water consumption includes drinking water, water in beverages and water that is part of food [45]. The required amount of water per day depends on the age and sex of the child,

as well as physical activity. The European Food Safety Authority recommends that children aged 4 to 8 drink about 1.0-1.1 L/day, girls aged 9-13 – 1.3-1.5 L/day, and boys 9-13 years – 1.5-1.7 L/day [46]. The drinking regime of adolescents over 14 years of age should correspond to the drinking regime of an adult – about 2.0 L/day for girls and about 2.5 L/day for boys.

A night's sleep. The question of the duration and quality of schoolchildren's night rest is relevant both during everyday life and during quarantine. Sleep deprivation is known to increase the risk of developing chronic diseases such as insulin resistance, obesity, deteriorating mental health, and injuries, weight and behavioral problems [47-53]. Indicators of mental capacity of schoolchildren are also sensitive to the factor of «night sleep». The probability of high levels of schoolchildren fatigue is 30% higher with sleep deprivation than with sufficient sleep duration. With a lack of sleep, the amount of mental work of students decreases by 7-11%, and the number of errors increases by 20-22% [10, 54]. The sleep duration recommended by the American Academy of Sleep Medicine for optimal health of children aged 6-12 years is 9-12 hours / day, and for adolescents aged 13-18 years - 8-10 hours / day [55]. According to our research, the optimal duration of sleep to maintain mental performance and reduce the risk of neurosis for children 6-11 years should be at least 10 hours, for adolescents 12-15 years at least 9 hours, for adolescents 16-18 years - at least 8 hours per day, in accordance with international recommendations [22, 54].

Figure 2 presents the recommendations of The International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions 'to ensure healthy sleep in children [56].

To implement the mechanisms of healthy sleep, it is necessary for the child to fall asleep and wake up at the same time. It is necessary to eliminate such irritants in the bedroom as electrical appliances with a bright display. In the bedroom you need to create a favorable microclimate for sleep. The air temperature in the cold season should be in the range of 18-22°C, and in the warm – 22-25°C; humidity 40-60%. But to apply these recommendations it is necessary taking into account comfort for the individual, after all the pleasant temperature mode is defined individually.

As a result of the introduction of distance education, in addition to adapting to an unusual method of teaching, students experience psychological discomfort due to loss or severe restriction of face-to-face communication with school friends and teachers, as well as cases of interruption due to poor technical capabilities. Obviously, the biggest problems arise in children who grow up in low-income families who do not have the necessary technical means to organize the learning and life of their children. Anxiety and confusion are common disorders during social isolation in all age groups [57]. Therefore, during the implementation of quarantine measures, it is

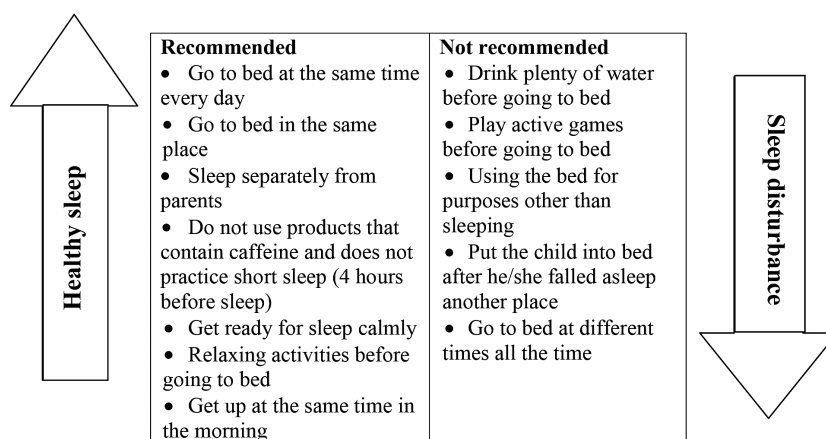


Fig. 2. Recommendations for sleep hygiene in children (The International Association for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions')

necessary to take care of the physical and mental health of schoolchildren, both on the part of parents and on the part of the educational institution.

Thus, the health of schoolchildren during the implementation of quarantine measures is formed under the influence of a set of factors, among which a significant place is occupied by management: properly organized learning process, daily routine, including diet and drinking, adequate physical activity and night rest.

To ensure the optimal course of adaptation of children in conditions of social isolation, it is also necessary to take into account the individual characteristics of children, the peculiarities of the circadian rhythm of schoolchildren of different ages, their physical and mental development.

CONCLUSIONS

Maintaining and strengthening the health of children in quarantine depends on the individual development and health of the child, the optimal organization of distance learning, ensuring sufficient duration of physical activity, sleep, limiting screen time, optimizing nutrition and drinking. Informing the public about the importance of these health components and specific recommendations will reduce the negative impact of social and physical isolation on children's health.

REFERENCES

1. World Health Organization. Mental health: strengthening our response. Geneva: World Health Organization, 2018.
View at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-health-strengthening-our-response>
2. Bramley A.M., Bresee J., Finelli L. Pediatric influenza. *Pediatr Nurs.* 2009; 35(6): 335-45. PMID: 20166462.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20166462/>
3. Non-pharmaceutical public health measures for mitigating the risk and impact of epidemic and pandemic influenza. WHO Regional Office for Europe. Copenhagen. 2019. 131 p.
View at: URL: https://www.who.int/influenza/publications/public_health_measures/publication/en/
https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0019/424342/NPI_guide.pdf
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329439/WHO-WHE-IHM-GIP-2019.1-eng.pdf?ua=1>
4. Hozak S. [Children's health in the conditions of modern challenges] [in Ukrainian].
View at: URL : <http://amnu.gov.ua/zdorov-ya-ditej-v-umovah-suchasnyh-vyklykiv/>
5. Lee I.M., Shiroma E.J., Lobelo F., Puska P., Blair S.N., Katzmarzyk P.T. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet.* 2012; 380(9838): 219-29. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61031-9.
View at: Publisher Site: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(12\)61031-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(12)61031-9/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22818936/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3645500/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/22818936>
6. Yelizarova O., Stankevych T., Parats A., Antomonov M., Polka N., Hozak S. Specific Features of the Ukrainian Urban Adolescents' Physical Activity: A Cross-Sectional Study. *J Environ Public Health.* 2020;3404285. DOI: 10.1155/2020/3404285.
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/jeph/2020/3404285/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32351581/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7171637/>
7. Pol'ka N.S., Gozak S.V., Yelizarova O.T., Parats A.M., Stankevich T.V., Kalinichenko I.O., Zaikina G.P., Latina G.O. [Mental efficiency, educational load and way of life of modern schoolchildren: hygienic aspects. Monograph]. Kyiv: MVC «Medinform», 2018. 214 p. [in Ukrainian].

- View at: URL: [http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?Z21ID=&I21DBN=EC&P21DBN=EC&S21STN=1&S21REF=10&S21FMT=fullweb&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=I&S21COLORT-ERMS=1&S21STR=%D0%92%D0%90825945\\$](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?Z21ID=&I21DBN=EC&P21DBN=EC&S21STN=1&S21REF=10&S21FMT=fullweb&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=I&S21COLORT-ERMS=1&S21STR=%D0%92%D0%90825945$)
8. Gaborets Yu.Yu., Dudina O.O. [Dynamics of morbidity of children in Ukraine in the regional aspect and the prevalence of diseases between them]. *Ukraine. Nation's Health*. 2017; 4: 18-28. [in Ukrainian].
View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uzn_2017_4_5
 9. Hozak S.V. [Influence of the organization of the educational process in schools on the formation of children's posture]. *Hygiene of populated places*. 2011; 58: 305-10. [in Ukrainian].
 10. Pol'ka N.S., Gozak S.V., Stankevych T.V., Yelizarova O.T., Paracz A.M. [Preventive program «Healthy schoolchildren to preserve and strengthen the health of secondary schools»: Guidelines]. Kyiv, 2018. 36 s [in Ukrainian].
View at: URL: [http://www.health.gov.ua/www.nsf/16a436f1b0cca21ec22571b300253d46/9cc650f-319694c45c22583c3004e45bd/\\$FILE/_d0n60bk2vf9i-6usivedhmgrcc5p2qchg64s0_.pdf](http://www.health.gov.ua/www.nsf/16a436f1b0cca21ec22571b300253d46/9cc650f-319694c45c22583c3004e45bd/$FILE/_d0n60bk2vf9i-6usivedhmgrcc5p2qchg64s0_.pdf)
 11. Hozak S.V., Yelizarova O.T. [The morphofunctional state of schoolchildren and its dependence on the organization of physical education]. *Medical Almanac*. 2013; 6 (30): 156-9. [in Russian].
View at: URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfofunktsionalnoe-sostoyanie-shkolnikov-i-ego-zavisimost-ot-organizatsii-fizicheskogo-vospitaniya>
 12. Hozak S.V., Yelizarova O.T., Parats A., Filonenko O. [The influence of the factors of the organization of the educational process on the vegetative tonus of children of secondary school age]. *Hygiene of populated places*. 2014; 64: 265-71. [in Ukrainian].
View at: URL: http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&image_file_name=PDF/gnm_2014_64_42.pdf
 13. Afanasyev S. [Adaptation possibilities of the vegetative nervous system in primary school-aged children with positional disorders]. *Theory and Methods of Physical Education and Sports*. 2016; 2: 14-8. [in Ukrainian]. DOI: 10.32652/tmfvs.2016.2.14-18.
View at: Publisher Site: <http://tmfvs-journal.uni-sport.edu.ua/article/view/82952>
 14. Yelizarova O.T. [Hygienic assessment of out-of-school static workload of children aged 8-11 years]. *Hygiene of populated places*. 2015; 66: 258-62. [in Ukrainian].
View at: URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/gnm_2015_66_42.
 15. Orben A., Tomova L., Blakemore S.J. The effects of social deprivation on adolescent development and mental health. *The Lancet. Child Adolesc Health*. 2020; 4(8): 634-40. DOI: 10.1016/S2352-4642(20)30186-3.
View at: Publisher Site: [https://www.thelancet.com/journals/lanchi/article/PIIS2352-4642\(20\)30186-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanchi/article/PIIS2352-4642(20)30186-3/fulltext)
 - Scopus: <https://covid19.elsevierpure.com/de/publications/the-effects-of-social-deprivation-on-adolescent-development-and-m>
 16. Hozak S., Yelizarova O., Stankevych T., Diuba N., Parats A., Lebedynets N. [Anxiety and depression of ukrainian school-age children in the process of distance education during the COVID-19 pandemic]. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv*. 2020; 1(11): 27-33. [in Ukrainian].
 17. [On approval of the Regulation on distance learning]: Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine 25.04.2013 № 466 [in Ukrainian].
View at: URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0703-13#Text>
 18. [Sanitary regulator for the institution of general secondary activity], approved by the Order of the Ministry of Health of Ukraine on 25.09.2020 № 2205 and registered in the Ministry of Justice of Ukraine on 10.11.2020. № 1111/35394 [in Ukrainian].
View at: URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1111-20>
 19. Student workplace equipment. Recommendations of the laboratory of social development of children's health determinants of O.M. Marzieiev Institute of Public Health [in Ukrainian].
View at: URL: <http://www.health.gov.ua/www.nsf/all/u04-02-07-01-09>
 20. Sung Y.-T., Chang K.-E., Liu T.-C. The effects of integrating mobile devices with teaching and learning on students' learning performance: A meta-analysis and research synthesis. *Computers & Education*. 2016; 94: 252-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compedu.2015.11.008>.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360131515300804>
 21. Noah Darko-Adjei. The use and effect of smartphones in students' learning activities: evidence from the university of ghana, legon. *Library Philosophy and Practice (e-journal)*. 2019; 2851.
View at: URL: <https://digitalcommons.unl.edu/libphilprac/2851>
 22. Hozak S. [The health of the child in quarantine. Recommendations for parents to maintain children's health and strengthen their immunity during the COVID-19 pandemic]. O.M. Marzieiev Institute of Public Health [in Ukrainian].
View at: URL: <http://www.health.gov.ua/www.nsf/all/u04-02-07-01?opendocument>
 23. Lototska A., Pasichnyk O. [Organization of distance learning in schools: methodical recommendations]. *MES of Ukraine*. 2020. 37 p. [in Ukrainian].
View at: URL: https://nus.org.ua/wp-content/uploads/2020/06/GRYF_Metodychni_rekomendatsii_dystantsiy-na_osvita_razvoroty.pdf
 24. Reich J., Buttner C.J., Fang A., Hillaire G., Hirsch K., Larke L.R., Littenberg-Tobias J., Slama R. Remote Learning Guidance From State Education Agencies During the COVID-19 Pandemic: A First Look. *EdArX-*

- iv, 2 Apr. 2020. Web. DOI: 10.35542/osf.io/437e2.
View at: Publisher Site: <https://edarxiv.org/437e2>
25. Hozak S., Yelizarova O., Parats A. [The regulation of school day load for school-age children]. *Pedagogical sciences: theory, history, innovative technologies*. 2017; 4 (68): 57-68. [in Ukrainian].
View at: URL: <https://pedscience.sspu.sumy.ua/wp-content/uploads/2018/04/417-%D0%B4%D1%80%D1%83%D0%BA.pdf>
 26. Yelizarova O.T., Hozak S.V., Parats A.M., Shumak O.V., Filonenko O.O. [Topicality of the optimization of day's routine and school day load in primary school-age children]. *Environment&Health*. 2015; 4(75): 36-40. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://www.dovkil-zdorov.kiev.ua/Publ/dovkil.nsf/all/article?opendocument&stype=1C3D613835BB84EAC2257F3C00436DD3>
 27. Hozak S., Yelizarova O., Shumak O., Filonenko O. [Dependence of middleaged pupils mind activity on day organization]. *Young Scientist*. 2016 Sep; 9.1(36.1):50-4. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://molodyvcheny.in.ua/files/journal/2016/9/13.pdf>
 28. Hozak S., Yelizarova O., Parats A., Diuba N., Stankevych T. [Distance education characteristics of Ukrainian school children during the COVID-19 pandemic]. *Bulletin of the Cherkasy Bohdan Khmelnytsky National University. Series «Pedagogical Sciences»* 2020; 3:14-22. [in Ukrainian]. DOI: 10.31651/2524-2660-2020-3-14-22.
View at: URL: <http://ped-ejournal.cdu.edu.ua/article/download/3915/4180>
 29. Hozak S. [Examples of morning exercises and exercises that are potentially dangerous to the health of untrained children]. [in Ukrainian].
View at: URL: <http://amnu.gov.ua/prykłady-fizychnyh-vprav-rankovoyi-gimnastyky-ta-vpravy-yaki-potencijno-nebezpečni-dlya-zdorov-ya-netrenovanyh-ditej/>
 30. Recess Planning in Schools: A Guide to Putting Strategies for Recess into Practice. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Dept of Health and Human Services. 2017.
View at: URL: https://www.cdc.gov/healthyschools/physicalactivity/pdf/2016_12_16_schoolrecessplanning_508.pdf
 31. Increasing Physical Education and Physical Activity: A Framework for Schools. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, US Dept of Health and Human Services. 2017.
View at: URL: https://www.cdc.gov/healthyschools/physicalactivity/pdf/17_278143-A_PE-PA-Framework_508.pdf
 32. Polka N.S., Hozak S.V., Stankevych T.V. [Preventive program “Healthy schoolboy” to preserve and strengthen the health of students in secondary schools: guidelines]. Kyiv, 2018. 33 p. [in Ukrainian].
View at: URL: [http://www.health.gov.ua/www.nsf/f/16a436f1b0cca21ec22571b300253d46/9cc650f-319694c45c22583c3004e45bd/\\$FILE/_d0n60bk2vf9i-6usivedhmgrcc5p2qchg64s0_.pdf](http://www.health.gov.ua/www.nsf/f/16a436f1b0cca21ec22571b300253d46/9cc650f-319694c45c22583c3004e45bd/$FILE/_d0n60bk2vf9i-6usivedhmgrcc5p2qchg64s0_.pdf)
 33. Bull F.C., Al-Ansari S.S., Biddle S., et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *British Journal of Sports Medicine*. 2020; 54: 1451-62. DOI: 10.1136/bjsports-2020-102955.
View at: Publisher Site: <https://bjsm.bmj.com/content/54/24/1451>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33239350/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7719906/>
 34. Physical Activity Guidelines for Americans, 2nd edition. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services. 2018. 118 p.
View at: URL: https://health.gov/sites/default/files/2019-09/Physical_Activity_Guidelines_2nd_edition.pdf
 35. Hozak S. [Physical activity of children in conditions of social isolation]. Information laboratory of social factors that determine the health of children. O.M. Marzieiev Institute of Public Health [in Ukrainian].
View at: URL : <http://www.health.gov.ua/www.nsf/all/u05-02-83?opendocument>
 36. Hozak S.V., Yelizarova O.T., Antomonov M.Iu., Stankevych T.V., Parats A.M. [Hygienic recommendations for the optimal level of physical activity of middle school children]. Kyiv, 2019. 2 s. (Information sheet on innovation in healthcare of State Institution “Marzieiev Institute for Public Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine № 266-2019). [in Ukrainian].
View at: URL: [http://www.health.gov.ua/www.nsf/f/16a436f1b0cca21ec22571b300253d46/9dbd04457d31d181c22583af0040cc79/\\$FILE/Inf_lysr_266-2019.pdf](http://www.health.gov.ua/www.nsf/f/16a436f1b0cca21ec22571b300253d46/9dbd04457d31d181c22583af0040cc79/$FILE/Inf_lysr_266-2019.pdf)
 37. Hozak S.V., Stankevych T.V., Yelizarova O.T., Parats A.M., Dereviahina A.V. [Relationship between motor activity of adolescents and their parents]. Current public health issues: Mater. X All-Ukrainian of scientific-practical conference with international participation “Education and Health” (7-8 April 2020, Sumy). Sumy, 2020. Vol. 1 (4): 28-30. [in Ukrainian].
 38. Anderssen N., Wold B. Parental and peer influences on leisure-time physical activity in young adolescents. *Res Q Exerc Sport*. 1992; 63(4): 341-8. DOI: 10.1080/02701367.1992.10608754.
View at: Publisher Site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02701367.1992.10608754>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/1439157>
 39. Forthofer M., Dowda M., McIver K., Barr-Anderson D.J., Pate R. Associations Between Maternal Support and Physical Activity Among 5th Grade Students. *Maternal Child Health J*. 2016; 20(3): 720-9. DOI: 10.1007/s10995-015-1873-0.
View at: Scopus: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10995-015-1873-0>

- PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26649880/>
 PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4754126/>
 Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/26649880>
40. Van Der Horst K., Paw M.J., Twisk J.W., Van Mechelen W. A brief review on correlates of physical activity and sedentariness in youth. *Med Sci Sports Exerc.* 2007; 39(8): 1241-50. DOI: 10.1249/mss.0b013e318059bf35. View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/acsm-mss/Fulltext/2007/08000/A_Brief_Review_on_Correlates_of_Physical_Activity.6.aspx
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17762356/>
 41. [Recommendations for school nutrition]. Information of laboratory of social factors that determine the health of children. O.M. Marzieiev Institute of Public Health [in Ukrainian]. View at: URL: <http://www.health.gov.ua/www.nsf/all/u04-02-07-01-02>
 42. Hozak S., Yelizarova O., Stankevych T., Parats A. [Factual nutrition of modern schoolchildren and its impact on mental efficiency and fatigue]. *Environment & Health.* 2017; 3(83): 29-33. [in Ukrainian]. DOI: 10.32402/dovkil2017.03.029 View at: Publisher Site: http://www.dovkil-zdorov.kiev.ua/publ/dovkil.nsf/all/article_e?opendocument&s-type=413212CE07CCBC24C22581B0003079B2
 43. Recommendations for water use for children of different ages. Information of laboratory of social factors that determine the health of children. O.M. Marzieiev Institute of Public Health [in Ukrainian]. View at: URL: <http://www.health.gov.ua/www.nsf/all/u04-02-07-01-02>
 44. Kempton M.J., Ettinger U., Foster R., Williams S.C., Calvert G.A., Hampshire A., Zelaya F.O., Morris M.T., Owen A.M., Smith M.S. Dehydration affects brain structure and function in healthy adolescents. *Hum Brain Mapp.* 2011; 32(1): 71-9. DOI: 10.1002/hbm.20999. View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hbm.20999>
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20336685/>
 PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6869970/>
 45. Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate Institute of Medicine (US) Panel on Dietary Reference Intakes for Electrolytes and Water. Washington, D.C.: National Academies Press, 2005. 638 p. DOI: 10.17226/10925 View at: URL: <https://www.nap.edu/catalog/10925/dietary-reference-intakes-for-water-potassium-sodium-chloride-and-sulfate>
 46. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for water. *EFSA Journal.* 2010; 8(3): 1459. DOI: 10.2903/j.efsa.2010.1459 View at: Publisher Site: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1459>
 URL: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2010.1459>
 47. Wheaton A.G., Chapman D.P., Croft J.B. School Start Times, Sleep, Behavioral, Health, and Academic Outcomes: A Review of the Literature. *J Sch Health.* 2016; 86(5): 363-81. DOI: 10.1111/josh.12388. View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/josh.12388>
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27040474/>
 PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4824552/>
 48. Cao M., Zhu Y., He B., Yang W., Chen Y., Ma J., Jing J. Association between sleep duration and obesity is age- and gender-dependent in Chinese urban children aged 6-18 years: a cross-sectional study. *BMC Public Health.* 2015; 15: 1029. DOI: 10.1186/s12889-015-2359-0. View at: Publisher Site: <https://bmcpubli-health.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12889-015-2359-0>
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26446623/>
 PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4596376/>
 49. Wang J., Adab P., Liu W., Chen Y., Li B., Lin R., Liu W., Cheng K.K., Pallan M. Prevalence of adiposity and its association with sleep duration, quality, and timing among 9-12-year-old children in Guangzhou, China. *J Epidemiol.* 2017; 27(11): 531-7. DOI: 10.1016/j.je.2016.11.003. View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0917504017301193?via%3Dihub>
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28623055/>
 PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5608611/>
 50. Dutil C., Chaput J.P. Inadequate sleep as a contributor to type 2 diabetes in children and adolescents. *Nutr Diabetes.* 2017; 7(5): 266. DOI: 10.1038/nutd.2017.19. View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/nutd201719>
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28481337/>
 PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5518801/>
 51. Willis T.A., Gregory A.M. Anxiety Disorders and Sleep in Children and Adolescents. *Sleep Med Clin.* 2015; 10(2): 125-31. DOI: 10.1016/j.jsmc.2015.02.002 View at: Publisher Site: [https://www.sleep.theclinics.com/article/S1556-407X\(15\)00014-4/fulltext](https://www.sleep.theclinics.com/article/S1556-407X(15)00014-4/fulltext)
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26055860/>
 52. Alfano C.A., Zakem A.H., Costa N.M., Taylor L.K., Weems C.F. Sleep problems and their relation to cognitive factors, anxiety, and depressive symptoms in children and adolescents. *Depress Anxiety.* 2009; 26(6): 503-12. DOI: 10.1002/da.20443. View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/da.20443>
 PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19067319/>
 Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/19067319>
 53. Matricciani L., Paquet C., Galland B., Short M., Olds T. Children's sleep and health: A meta-review. *Sleep Med Rev.* 2019; 46: 136-50. DOI: 10.1016/j.smrv.2019.04.011 View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/>

- article/abs/pii/S1087079219300188?via%3Dihub
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31121414/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/31121414>
54. Hozak S., Yelizarova O., Stankevych T., Parats A. [Night sleep duration in the pupils as a hygienic problem]. *Environment&Health*. 2018; 1(85):68-72. [in Ukrainian]. DOI: 10.32402/dovkil2018.01.068.
View at: Publisher Site: http://www.dovkil-zdorov.kiev.ua/publ/dovkil.nsf/all/article_e?opendocument&stype=90E6FED8F45C2204C225826B002A84C6
55. Paruthi S., Brooks L.J., D'Ambrosio C., Hall W.A., Kotagal S., Lloyd R.M., Malow B.A., Maski K., Nichols C., Quan S.F., Rosen C.L., Troester M.M., Wise M.S. Consensus statement of the American Academy of Sleep Medicine on the recommended amount of sleep for healthy children: methodology and discussion. *J Clin Sleep Med*. 2016; 12: 1549-61. DOI: 10.5664/jcsm.6288
View at: Publisher Site: <https://jcsm.aasm.org/doi/10.5664/jcsm.6288>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27707447/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5078711/>
56. JM REY'S IACAPAP. e-Textbook of Child and Adolescent Mental Health. IACAPAP. 2018. Vol. 1. 770 p. [in Russian].
View at: URL: <https://iacapap.org/english>
57. Loades M.E., Chatburn E., Higson-Sweeney N., Reynolds S., Shafran R., Brigden A., Linney C., McManus M.N., Borwick C., Crawley E. Rapid Systematic Review: The Impact of Social Isolation and Loneliness on the Mental Health of Children and Adolescents in the Context of COVID-19. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2020; 59(11): 1218-39. DOI: 10.1016/j.jaac.2020.05.009
View at: Publisher Site: [https://jaacap.org/article/S0890-8567\(20\)30337-3/fulltext](https://jaacap.org/article/S0890-8567(20)30337-3/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32504808/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7267797/>
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0890856720303373>

Article history
Received: 03.03.2021
Revision requested: 09.03.2021
Revision received: 18.03.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

ГІГІЄНІЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО ЗБЕРЕЖЕННЯ ЗДОРОВ'Я ДІТЕЙ В УМОВАХ КАРАНТИНУ

Гозак С.В., Станкевич Т.В., Єлізарова О.Т., Парац А.М.

ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України», Київ, Україна

school_health@meta.ua

Актуальність. Введення карантинних та обмежувальних заходів в Україні під час пандемії COVID-19 кардинально змінило всі аспекти життєдіяльності школярів. До характерних проявів життєдіяльності дітей у нових умовах можна віднести обмеження соціальних контактів, обмеження переміщення та дистанційне навчання. Але соціальна ізоляція, вплив негативних факторів дистанційної освіти та тривалий стрес можуть загрожувати здоров'ю дітей шкільного віку як на даний момент, так і мати відстрочені наслідки. Забезпечення оптимального перебігу процесів адаптації до нових умов знижує ризик порушення здоров'я дітей на різних рівнях: фізичному, психічному, соціальному.

Мета: розробити рекомендації щодо організації життєдіяльності школярів, що є надзвичайно важливим для збереження їх здоров'я в умовах викликів сьогодення.

Методи. При написанні рекомендацій був застосований структурно-логічний та аналітичний методи на основі використання власних 20-річних досліджень щодо формування здоров'я дітей та підлітків під впливом факторів життєдіяльності, в тому числі під час пандемії COVID-19, а також наукових досліджень інших авторів, матеріалів ВООЗ, CDC. Представлені результати наших досліджень як до, так і під час карантину.

Результати. Здоров'я школяра під час впровадження карантинних заходів формується під впливом комплексу факторів, серед яких значне місце займають керовані: правильно організовані процес навчання, розпорядок дня, в тому числі режим харчування та питний режим, забезпечення достатньої рухової активності та нічного відпочинку. Для забезпечення оптимального перебігу адаптації дітей в умовах соціальної ізоляції необхідно також враховувати індивідуальні особливості дітей, особливості циркадного ритму школярів різних вікових груп, їх фізичний та психічний розвиток.

Висновки. Збереження і зміцнення здоров'я дітей в умовах карантину залежить від індивідуальних особливостей розвитку і стану здоров'я дитини, оптимальної організації дистанційного навчання, забезпечення достатньої тривалості рухової активності, сну, обмеження екранного часу, оптимізації харчування і питного режиму. Інформування населення щодо важливості цих здоров'язберігаючих складових та конкретні рекомендації дозволять зменшити негативний вплив соціальної і фізичної ізоляції на здоров'я дітей.

Ключові слова: гігієнічні рекомендації, збереження здоров'я дітей, карантин, організація життєдіяльності школярів, дистанційна освіта

Гозак С.В., Станкевич Т.В., Елизарова Е.Т., Парац А.Н.

ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины», Киев, Украина

school_health@meta.ua

Актуальность. Введение карантинных и ограничительных мер в Украине во время пандемии COVID-19 кардинально изменило все аспекты жизнедеятельности школьников. К характерным проявлениям жизнедеятельности детей в новых условиях можно отнести ограничение социальных контактов, ограничение перемещения и дистанционное обучение. Но социальная изоляция, влияние негативных факторов дистанционного образования и длительный стресс могут угрожать здоровью детей школьного возраста как на данный момент, так и иметь отсроченные последствия. Обеспечение оптимального течения процессов адаптации к новым условиям снижает риск нарушения здоровья детей на разных уровнях: физическом, психическом, социальном.

Цель: разработать рекомендации по организации жизнедеятельности школьников, что является чрезвычайно важным для сохранения их здоровья в условиях вызовов сегодняшнего дня.

Методы. При написании рекомендаций был применен структурно-логический и аналитический методы на основе использования собственных 20-летних исследований по формированию здоровья детей и подростков под влиянием факторов жизнедеятельности, в том числе во время пандемии COVID-19, а также научных исследований других авторов, материалов ВОЗ, CDC. Представлены результаты наших исследований как до, так и во время карантина.

Результаты. Здоровье школьника при внедрении карантинных мероприятий формируется под влиянием комплекса факторов, среди которых значительное место занимают управляемые: правильно организованные процесс обучения, распорядок дня, в том числе режим питания и питьевой режим, обеспечения достаточной двигательной активности и ночного отдыха. Для обеспечения оптимального течения адаптации детей в условиях социальной изоляции необходимо также учитывать индивидуальные особенности детей, особенности циркадного ритма школьников разных возрастных групп, их физическое и психическое развитие.

Выводы. Сохранение и укрепление здоровья детей в условиях карантина зависит от индивидуальных особенностей развития и состояния здоровья ребенка, оптимальной организации дистанционного обучения, обеспечения достаточной продолжительности двигательной активности, сна, ограничения экранного времени, оптимизации питания и питьевого режима. Информирование населения о важности этих здоровьесберегающих составляющих и конкретные рекомендации позволят уменьшить негативное влияние социальной и физической изоляции на здоровье детей.

Ключевые слова: гигиенические рекомендации, сохранение здоровья детей, карантин, организация жизнедеятельности школьников, дистанционное образование

BIOFILM AND TUMOR: INTERPRETATION OF INTERACTION AND TREATMENT STRATEGIES. Review

Ivanenko N. <https://orcid.org/0000-0002-3440-1684>

Donetsk National Medical University, Kropyvnytskyi, Ukraine

natalimarkowskaj@gmail.com

Relevance. Treatment of solid tumors and biofilm-derived infections face a common problem: drugs often fail to reach and kill cancer cells and microbial pathogens because of local microenvironment heterogeneities. There are remarkable challenges for current and prospective anticancer and antibiofilm agents to target and maintain activity in the microenvironments where cancer cells and microbial pathogens survive and cause the onset of disease. Bacterial infections in cancer formation will increase the coming years. Collection of approaches such as ROS modulation in cells, tumor is promoted by microbe's inflammation can be a strategy to target cancer and bacteria. Besides that, bacteria may take the advantage of oxygen tension and permissive carbon sources, therefore the tumor microenvironment (TM) becomes a potential refuge for bacteria. It is noteworthy that the relation between cancer and bacteria is intertwined.

Objective: To analyze similarities biofilm and tumor milieu that are produced against stress conditions and heterogeneous microenvironment for combination of approaches the bacteriotherapy with chemotherapy which can help in defeating the tumor heterogeneity accompanied with malignancy, drug-resistance and metastasis.

Method: An analytical review of the literature on keywords from the scientometric databases PubMed, Wiley.

Results: Bacteria evade antimicrobial treatment is mainly due to persistence that have become dormant during stationary phase and tolerance. Drug-tolerant persisters and cellular dormancy are crucial in the development of cancer, especially in understanding the development of metastases as a late relapse. Biofilms are formed by groups of cells in different states, growing or non-growing and metabolically active or inactive in variable fractions, depending on maturity and on chemical gradients (O_2 and nutrients) of the biofilms producing physiological heterogeneity. Heterogeneity in the microenvironment of a cancer can be described as a non-cell autonomous driver of cancer cell diversity; in a highly diverse microenvironment, different cellular phenotypes may be selected for or against in different regions of the tumor. Hypoxia, oxidative stress and inflammation have been identified as positive regulators of metastatic potential, drug resistance and tumorigenic properties in cancer. It is proven that, *Escherichia coli* (*E. coli*) and life-threatening infectious pathogens such as *Staphylococcus aureus* (SA) and *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) are noticeably sensitive to alterations in the intracellular oxidative environment. An alternative emerging paradigm is that many cancers may be promoted by commensal microbiota, either by translocation and adherence of microbes to cancer cells or by the distant release of inflammation-activating microbial metabolites. Microbial factors such as *F. nucleatum*, *B. fragilis* and *Enterobacteriaceae* members may contribute to disease onset in patients with a hereditary form of colorectal cancer (CRC); familial adenomatous polyposis (FAP). These findings are linked with the creation of new biomarkers and therapy for identifying and treating biofilm-associated cancers. Currently, about 20% of neoplasms globally can be caused by infections, with approximately 1.2 million cases annually. Several antineoplastic drugs that exhibited activity against *S. mutans*, including tamoxifen, doxorubicin, and ponatinib, also possessed activity against other Gram-positive bacteria. Drug repurposing, also known as repositioning, has gained momentum, mostly due to its advantages over de novo drug discovery, including reduced risk to patients due to previously documented clinical trials, lower drug development costs, and faster benchtop-to-clinic transition. Although many bacteria are carcinogens and tumor promoters, some have shown great potential towards cancer therapy. Several species of bacteria have shown an impressive power to penetrate and colonize solid tumors, which has mainly led to neoplasm slower growth and tumor clearance. Different strains of *Clostridia*, *Lactococcus*, *Bifidobacteria*, *Shigella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Escherichia*, and *Salmonella* have been evaluated against cancer in animal models.

Conclusion. Cancer is a multifactorial disease and the use of bacteria for cancer therapy as an immunostimulatory agent or as a vector for carrying the therapeutic cargo is a promising treatment method. Therefore, the world has turned to an alternative solution, which is the use of genetically engineered microorganisms; thus, the use of living bacteria targeting cancerous cells is the unique option to overcome these challenges. Bacterial therapies, whether used alone or combination with chemotherapy, give a positive effect to treat multiple conditions of cancer.

Keywords: biofilm, tumor, heterogeneity, biomarker, repositioning, bacteriotherapy.

Relevance. Recognition of the fact that bacterial biofilm may play a role in the pathogenesis of disease has led to an increased focus on identifying diseases that may be biofilm-related. In the majority of cases, this is based on observations of biofilm-like structures in biopsies, autopsies, and exudates of patients and/or research animals. Additionally or alternatively, the presence of biofilm is indicated by studies on bacterial phenotypes during infection, immune responses, and vaccination

experiments. Furthermore, the presence of biofilm may contribute to development of cancer [1].

Much of the microbiological research during the last century has focused on the investigation of the planktonic lifestyle of microorganisms. The challenge now is to decipher the specific features of the under researched biofilm lifestyle, because its ubiquitous nature and its importance in the clinic. Biofilm communities appear to be more complex than planktonic cultures. Not only is the

cell physiology different, but any biofilm is composed of cells with diverse physiology one extreme being represented by dormant, metabolically silent, and persister cells. The basic concept of deleterious biofilms as microbial colonization of the ‘wrong type of bacteria at the wrong place’, can be even more dramatically exemplified in the arising association between biofilms and the development of certain cancers [2].

METHOD

An analytical review of the literature on keywords from the scientometric databases PubMed, Wiley. Search depth 5 years from 2016 to 2020.

RESULTS AND DISCUSSION

Deeply studied in bacteria, bacterial biofilms represent multicellular assemblies of bacteria in contact with a surface and shielded by the extracellular matrix (ECM). Microbial lifestyle in biofilms, either viral or bacterial, is opposed structurally and physiologically to an isolated lifestyle, in which viruses or bacteria freely float in their environment. Biofilm grows until it becomes a macroscopic “mushroom”-like structure. Such biofilms are not uniform and contain channels that are believed to be essential for providing nutrients to bacteria embedded deeper in biofilm layers. Indeed, bacteria are present in different physiological states (anaerobic, dormancy, etc.) depending on their location in the biofilm, and on the availability of substrates, oxygenation, pH, or exposure to metabolites present in the biofilm. After biofilm maturation, isolated or aggregated bacteria can dissociate and end up in the bloodstream. This detachment stage allows colonization of other sites, leading to the appearance of “metastasis” of the infection. Bacterial release from the biofilm requires degradation of biofilm polymers by enzymes and surfactant molecules that reduce surface-bacterial interactions. Although the processes leading to the synthesis, stability, and regulation of bacterial biofilms have been widely studied, the kinetics and dynamics of ECM remodeling mechanisms leading to the formation of viral biofilm have not been investigated yet, but can be drawn from scarce literature data [3].

The lifetime of bacterial cells is subdivided into two different phases: unicellular (planktonic) and multicellular (biofilm or sessile cells).

Modification between the two phases assumes the transfer from planktonic cells to sessile cells to trigger biofilm formation and from sessile cells to separated cells to provide a return to the planktonic state [4].

Biofilm formation can be described in four stages: (i) the planktonic cells reversibly attach to a suitable surface; (ii) the cells begin proliferating and irreversibly adhere to the surface to form microcolonies; (iii) the cells grow and mature from microcolonies into clusters of multilayered cells and begin to synthesize extracellular polymeric sub-

stances (EPSs) that comprise the matrix; and (iv) some of the cells within the biofilm detach and disperse as planktonic cells to form biofilms in other settings. The adoption and maintenance of a biofilm mode of growth by bacteria is regulated by quorum sensing (QS), which is a system of intercellular communication that involves signaling molecules to coordinate various bacterial behaviors (enable the bacteria to persist in the host cells and escape the host defense immune system) and processes according to the cell population density [5].

The extracellular milieu is a key feature that controls the function of tumor and bacterial cells alike. In tumors, the extracellular matrix (ECM) is commonly altered and disorganized, while creating local areas of hypoxia and acidic pH that influence tumor progression. Additionally, the matrix becomes fibrotic and denser as solid tumors progress, further limiting diffusion. Altogether, the dysfunctional matrix presents diffusive barriers and create microenvironmental heterogeneity that hinder drug distribution and efficacy after extravasation from circulation. Bacterial EPS matrix facilitates the creation of physical and chemical heterogeneities as well as oxygen gradients and localized pH microenvironments in biofilms, modulating the bacterial survival and virulence at sites of infection. This feature has many similarities to the tumor milieu, with gradients resulting from diffusional limitation as well as cellular oxygen consumption and metabolic byproducts. Within biofilms, the structural, physiological and chemical heterogeneity of matrix-delineated microenvironments also contributes to reduced access and increased resistance of the embedded microorganisms to antibiotics. Furthermore, degrading the matrix can facilitate the transport into the tumor or biofilm microenvironments.

Although seemingly disparate diseases, treatment of solid tumors and biofilm-derived infections face a common problem: drugs often fail to reach and kill cancer cells and microbial pathogens because of local microenvironment heterogeneities. Furthermore, traditional systemic and, to a lesser extent, topical therapies can be toxic or have broad-spectrum activity, resulting in significant damage to healthy tissue. Common off-target effects for cancer chemotherapy are low red blood cell, platelet, neutrophil and immune cell counts, while antimicrobials are associated with nephrotoxicity, ototoxicity and neuromuscular blockade. Toxic side effects result in suboptimal treatment regimens and the eventual failure of therapy. Biofilm treatments, such as high-dose antibiotic administration, also cause substantial collateral damage including loss of potentially protective, commensal species, proliferation of opportunistic pathogens or even unintended induction of virulence factors, often with little effect on target pathogens. Biofilms and cancer have many unique conceptual similarities that can be exploited to design novel and selective drug delivery approaches. Tissue heterogeneity and compartmentalization

alters accessibility of chemotherapeutic agents, provides protection from exogenously introduced antibiotics and promotes drug resistance. Furthermore, altered immune responses are often found within tumor and biofilms microenvironments. Thus, there are remarkable challenges for current and prospective anticancer and antibiofilm agents to target and maintain activity in the microenvironments where cancer cells and microbial pathogens survive and cause the onset of disease [6].

Planktonic bacteria colonizing a niche form microcolonies after adhere to the surface and multiplying. The initial small aggregates of bacteria with the uniform type of organization can progress to larger and more complex aggregates called biofilms. These structures are categorized *in vitro* as matrix covered bacterial (and/or archaeal) populations adhesive to each other or to surfaces and interfaces.

Selfsecreted, hydrated matrix *in vitro* contains of extracellular polymeric substances (EPS), which typically contributes more than 90% of the mass of biofilms. The human mucosal-associated bacterial biofilms may also include host proteins, mucopolysaccharides, nucleic acids and even whole host cells. Biofilms appear to promote to more than 80% of human soft and hard tissue infections due to the biofilms are ubiquitous and can be adherent to biological and nonbiological surfaces ensuring for the exchange of nutrients with their environment. Nevertheless, there are limitations in the study of biofilms *in vivo* (on a human host) despite their prevalence. In particular, this is due to the ability of biofilm-forming bacteria to horizontal transfer genes in the appropriate favorable environment, including antimicrobial resistance genes, which makes the eradication of biofilm by host defenses or antibiotics less effective. This avoidance of anti-microbials is first mediated by the EPS, which serves as a protective barrier to the biofilm-embedded bacteria in a manner similar to how the mucus layer protects epithelia in the human body. It is believed that biofilms can have a stable growth environment. However, the structures of bacterial populations that may be active, dormant, or resistant to antimicrobial agents contribute to the development of more quickly matrix response in evading host defenses [7].

Some bacterial cells within biofilms survive treatment with antimicrobials that have a greater effect on planktonic cells. It is believed that the ability of bacteria to evade antimicrobial treatment is mainly due to persisters. However, 'resistance' and 'tolerance' are also relevant in this context. Resistance is an inherited ability of a microbial population to grow despite the presence of a high concentration of an antimicrobial, irrespective of the duration of the treatment, but depending on the concentration of the particular antimicrobial that is termed 'minimum inhibitory concentration'. Similarly, tolerance is the ability of a microbial population to survive a transient exposure to an antimicrobial, irrespective of

antimicrobial concentration which may even exceed the minimum inhibitory concentration, but highly depending on the duration of killing, termed 'the minimum duration for killing'. Persistence is also the ability of the bacterial population to persist antimicrobial treatment; however, unlike resistance and tolerance, it is the attribute of only a subpopulation of a clonal microbial population. Resistance is usually caused by inherited mutations, while tolerance, like persistence, may be triggered by slow growth rate, external stress factors that include starvation as well, host–environment factors and the antimicrobial itself [8].

Another source of persister cells is those that have become dormant during stationary phase. Such cells are simply carried over to the new culture upon sub-culturing. The mechanisms driving subpopulations of cells to enter the persistent state are the subject of intense research and debate. The ability of biofilms to house tolerant and persister cells is proposed to underlie the difficulties encountered in eliminating biofilms during chronic infections [9].

Strikingly, drug-tolerant persisters are also present in cancer cell populations, where they are implicated in tumor recurrence. These phenotypically variable cells can be a significant source of resistance to therapy. The intriguing parallel between cancer and infections, two seemingly distinct types of disease, indicates that antipersister strategies may also help to improve the treatment outcome of cancer. One of examples is the inhibition of lipid hydroperoxidase GPX4, and supports the viability of persistence cells, which ultimately leads to the loss of drug resistance by cancer cells. Collaborations of microbiologists and clinicians aimed at understanding the behavior of various cell states in biofilms can lead to a reduction in the ineffectiveness of therapy for both infectious diseases and cancer [10].

The dormancy of cancer cells plays a leading role in the formation of metastases as a late relapse, when the microenvironment provides a certain degree of metastasis. However, it should be considered that dormant cells, which can also propagate in primary tumors in places of hypoxia, are quite resistant to traditional cancer treatments, which target actively proliferating cells. In breast cancer, inhibition of $\beta 1$ integrin induced dormancy *in vitro* and *in vivo*. The mouse breast cancer cell lines, D2.0R and D2A1, both grow exponentially in 2-D culture conditions, but D2.0R fails to grow in 3-D cultures and become dormant. This is compatible with the *in vivo* results that D2A1 forms lung metastasis within short periods, whereas D2.0R has a long latency. D2A1 cells proliferate in 3-D cultures by producing fibronectin and forming actin stress fibers through activation of $\beta 1$ integrin. Thus, the interaction between the extracellular matrix and cancer cells plays an important role in cellular dormancy [11].

The slow growing small-colony variant (SCV) subpopulation is another equally puzzling phenotype that complicates biofilm formation as well as treatment and

diagnosis of biofilm-related disease. The contribution of SCVs to biofilm formation has been studied for a rather small number of bacterial pathogens despite the huge clinical significance of persistent infections evading detection and complicating treatment. In combination, these different phenotypes within microbial communities give rise to an extremely resilient community that can withstand many stressors and shield the resident bacteria from eradication [12].

A morphological change described as small colony variants (SCVs) has been linked to various biofilm associated infections, such as cystic fibrosis, osteomyelitis and device-related infections. Since its first description for *Salmonella enterica* serovar typhi (*S. typhi*) almost 100 years ago, SCVs have now been reported for a wide range of bacterial genera and species, including *Staphylococci*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Shigella* spp., *Lactobacillus acidophilus*, and *Neisseria gonorrhoeae*. Currently, the connection between the SCV phenotype and persistent, recurrent infections has become a hot topic in clinical microbiology. Phenotypically, the size of SCVs is about one tenth of that in regular colonies, with slow growth, atypical colony morphology, and acquired biochemical properties. They are less sensitive to antibiotics compared to their wild-type species. Furthermore, even if biofilm-associated bacteria express lower virulence per time compared with planktonic bacteria, cumulative effects on host cells may be higher. In addition, aggregative nature of biofilm-forming bacteria may enhance virulence through increased adherence to host cells, even if the same amount and potency of virulence molecules are produced or released. Part of biofilm-associated virulence is also derived from surrounding extracellular polymeric substance (EPS), not bacterial cells themselves. When compared with helical forms, coccoid forms of *Helicobacter pylori* (Hp) from peptic ulcer patients were found to express higher levels of proteins that are involved in virulence and carcinogenesis, such as secretion system machinery proteins, CagE, CagV, and YidC and proinflammatory proteins, such as OipA and Hps. More relevant to biofilm-associated Hp, is reported that *Streptococcus mitis* induced Hp conversion to coccoid cells in co-culture studies and their proteomic analysis revealed a metabolic crosstalk between these two bacteria, suggesting a probable impact on Hp-associated carcinogenesis [13].

Antimicrobial resistance and the antibiotic tolerance are ensured by the density and physiological differentiation of subpopulations in the bacterial biofilm, as well as by the presence of a matrix that restricts the diffusion of chemical and biological substances in the biomass. Cells in biofilms exhibit complex physiological differentiation of populations, which is expressed in various gene expression and metabolic diversity regardless of an identical set of genetic material. Indeed, these metabolic changes can be due to stochastic factors such as

spontaneous mutation, which fundamentally changes the genetic material within a cell. The microenvironment of the biofilm and the physiology of microorganisms have a reciprocal influence on each other, which creates phenotypic diversity in the biofilm. The matrix promotes the emergence of new subpopulations with the densification of biomass. Various studies have focused on the understanding of these heterogeneous subpopulations of cells within a biofilm stratum, which are characterized by distinct genetic programs, spatial segregation, and differential antibiotic susceptibility [14].

The growth and division of non-motile cells tends to produce densely-packed assemblages. The tight packing of cells is the natural consequence of population growth against a visco-elastic extra-cellular environment, and can be further promoted by attractive cell-cell interactions. Common examples range from microbial communities, in the form of colonies or biofilms, to multi-cellular structures, such as developing tissues or tumors. The evolution of cell populations in a dense microenvironment has not yet been sufficiently studied. When studying yeast colonies, it was observed that cells in slow-growing populations exhibit correlated movements that suppress differential dislocation that affect selection. This allows such clones to retain life-saving mutations and have advantages in reproduction. It is suggested that, in crowded populations, cells cooperate with surrounding neighbors through inevitable mechanical interactions. This effect has to be considered when predicting evolutionary outcomes, such as the emergence of drug resistance or cancer evolution [15].

Heterogeneity is a fundamental property of biological systems that contributes to development, differentiation, immune-mediated responses, and many other cellular, tissue, organ, and organism functions as well as diseases and disease progression. Whether heterogeneity is inherent to a population of cells, induced by the microenvironment, or induced by compound or reagent treatment, analysis of phenotypically similar cell subpopulations, derived from the analysis of heterogeneity, is expected to: improve the accuracy of cellular measurements; better support the interpretation of the data; provide insights into the regulation of cellular networks; guide the computational modeling of the networks; guide the prioritization of compounds for development in drug discovery; optimize the development of diagnostics for precision medicine and further basic biological knowledge [16].

Physiological heterogeneity is characterised by differences in gene expression, metabolic activity and phenotype, including antimicrobial tolerance, of cells located in different geographical areas of a biofilm. Heterogeneity arises due to the gradient of oxygen and of other nutrients within the biofilm. The role of hypoxia in contributing to biofilm tolerance to antimicrobials is further supported by the fact that biofilms treated with a variety of antimicrobials under global anaerobic conditions were more

tolerant than similarly treated aerobic controls. There are different hypotheses that could also help explain how hypoxia confers antibiotic tolerance in biofilms. For example, a study examining the effects of hypoxia on multidrug efflux gene expression in *P. aeruginosa* demonstrated that the MexEF-oprN efflux pump genes are upregulated in oxygenstarved planktonic cells and contribute to antibiotic resistance in these cells, and it is possible that MexEF-OprN could also be contributing to the antibiotic resistance of biofilm subpopulations in areas with low oxygen tension. Subpopulations in biofilms are, as a result, physiologically heterogeneous, which makes the study of biofilms challenging since many experimental procedures such as susceptibility testing and transcriptomic profiling assess the biofilm as a whole instead of distinct biofilm subpopulations [17].

However, many biological aspects of tumor heterogeneity remain unknown. The analysis of multiple biopsies from the same tumor can reveal the spatial composition and evolutionary trajectory of subclones. The clonal and subclonal composition of each tumor can be used to construct distance-based phylogenetic trees. Mutations present in all samples of a tumor are inferred to be acquired by early precursor cells that clonally expanded (clonal mutations), represented by truncal events on the evolutionary tree, and mutations present in only a subset of samples are inferred to be later events, acquired at some point during or after the initial clonal expansion (subclonal mutations). Underestimation of tumor heterogeneity may lead to a serious flaw in cancer diagnosis and treatment selection [18].

In particular, intra-tumor heterogeneity (ITH) is closely related to cancer progression, resistance to therapy, and recurrences. New approaches were considered for the methods of clinical studies were revised taking into account morphological, molecular and histological aspects associated with ITH. The clonal one is related to different types of genomic instability that also influence aggressiveness and treatment. The nonclonal one is functional, microenvironment related, or stochastic, notably single cell efficiency related. Clonal and microenvironment ITHs are closely connected and influence each other. All these types of ITH affect cancer progression and treatment efficacy and should be considered as a whole for any patient [19].

Multiregional sampling, the method to sample biopsies from multiple regions within a single tumor, is the most common investigational strategy to determine the extent of ITH. This strategy is based on the “clonal evolution model”, which was first proposed by Nowell in 1976, and became the most accepted hypothesis to depict the process of ITH in addition to the “CSC model” (cancer stem cell model). In this theory, carcinogenesis is considered to be a stochastic process. Numerous random genetic alterations created by genomic instability and continuous stimulation of carcinogens results in the emergence of subclones. The

subclones with a survival advantage in a spatiotemporally specific microenvironment will establish dominance, while the non-adaptive subclones will be eliminated. Upon the selective pressure of the tumor microenvironments (TME), the complex architecture of ITH is preserved and dynamically reorganized [20].

The microenvironment is closely associated with genetic instability leading to genetic heterogeneity and the emergence of clone-positive mutations, especially in the early stages of cancer. The leading paradigm in cancer evolution is that genetic instability results in genetic heterogeneity leading to a phenotypically diverse pool of cancer subclones upon which selection can act [21].

It is evident that interference in different cell clones at the phenotypic level in a synergistic and antagonistic way can promote tumor evolution. It has also been shown that nondominant minor subclones can drive tumor evolution by interacting with the microenvironment, and several phenotypic functional constraints could influence clonal evolution. The functional phenotypic events in tumors are strictly associated with the microenvironment. Immune-histochemical biomarkers have already shown a high phenotypic level of heterogeneity in several types of tumors, and this was recently confirmed by the introduction of immunotherapy biomarkers [22].

Heterogeneity in the microenvironment of a cancer can be described as a non-cell autonomous driver of cancer cell diversity; in a highly diverse microenvironment, different cellular phenotypes may be selected for or against in different regions of the tumor. Different phenotypes may be genetically determined (such as the case of VHL/HIF1 mutants in kidney cancer), or they may be a consequence of plasticity in cellular behaviors, and furthermore there may be feedback between the tumor cells and their microenvironment that drives specialisation of tumor cells and the concomitant strengthening of microenvironmental gradients [23].

According to the data obtained, the dynamic tumor microenvironment determines the malignant properties of tumor cells. Hypoxia, oxidative stress and inflammation have been identified as positive regulators of metastatic potential, drug resistance and tumorigenic properties in cancer. One of the markers of hypoxia is the transcription factor-1 α (HIF-1 α) responsible for the expression of more than 100 genes. Its stabilization is associated with aggressive manifestations of cancer such as drug resistance and metastasis, which leads to a poor prognosis. Cancer cells are able to switch metabolic pathways by showing dependence on aerobic reactions, which lead to enhanced production and an elevation of intracellular level of reactive oxygen species ROS. Simultaneously, ROS activate signaling pathways of oncogenesis, weakening the expression of antioxidant genes and creating an aggressive tumor environment. The tumor-suppressive mechanisms by resveratrol, such as overproduction of ROS and subsequent activation of

ROS-related signaling pathways could be utilized to develop anti-cancer strategies [24].

Reactive oxygen species (ROS) are metabolic by-products of aerobic respiration and are responsible for maintaining redox homeostasis in cells. Redox balance and oxidative stress are orchestrated by antioxidant enzymes, reduced thiols and NADP(H) cofactors, which is critical for cancer cells survival and progression. It is proven that *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (SA) and *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) are noticeably sensitive to alterations in the intracellular oxidative environment. Thus, the development of approaches that utilize molecular structures including enzymes that modify the level of antioxidants and intracellular ROS, should be aimed at changing the redox potential of the cellular environment. These therapeutic strategies can provoke the death of tumor and bacterial cells [25].

Inflammation predisposes to the development of cancer and promotes all stages of tumorigenesis. However, an alternative emerging paradigm is that many cancers may be promoted by commensal microbiota, either by translocation and adherence of microbes to cancer cells or by the distant release of inflammation-activating microbial metabolites. These microbes and microbial products can even travel with tumors to the site of metastasis and serve as a source of inflammation in metastasis. Perhaps the best example of commensal microbiota influencing tumor growth and progression comes from colon cancer. Events following intestinal transformation lead to the deterioration of intestinal barrier, because hyperproliferating cells fail to properly differentiate and form protective tight and adherence junctions and well-developed mucus layer, isolating immune compartment from bacteria. In human colorectal cancer (CRC), quite a few of bacteria have been suggested to be preferentially associated with adenomas and carcinomas, including subspecies of *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis* and *Fusobacterium nucleatum*. A common denominator for these bacteria is their presence in tightly adherent fraction of bacteria capable of direct interaction with the surface of the tumor, either because of special ligand-receptor mode of adhesion, ability to form biofilms and initiate the outgrowth of the consortia of invasive bacteria or ability to induce low grade inflammation disrupting the barrier. It is reasonable to expect that the tumor promoting action of microbes in any of microbe rich cancer sites will be in part mediated by the inflammation they modulate [26].

Evidence from recent years strongly suggests that the tumor microenvironment (TME) is an indispensable participant in the metastatic process. Tumor is described as an unhealed chronically inflamed wound. Chronic inflammation is often associated with tumor processes in contrast to acute inflammation, which maintains the constancy of the internal environment-homeostasis and regeneration of tissues.

Many factors can trigger inflammatory response in

tumors, including infection, tissue damage, activation of oncogenes, and loss of tumor suppressors (TS). p53 mutations are documented in over 50% of human cancers. Loss of normal p53 function is frequently associated with an increased susceptibility to inflammation-driven cancers such as ulcerative colitis-associated colorectal cancer. A strong association of p53 mutation and NF- κ B activity has been observed in patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) [27].

One study demonstrated that *E. coli* species that produce the genotoxin colibactin, induce tumor growth (TGF- β) by increasing production of hepatocyte growth factor in human and mouse colon cancer models. Colibactin promotes tumorigenesis through the production of growth factors as a result of alterations in the sumoylation of p53 [28].

Changes to the microbiome have been associated with various inflammatory diseases, such as atopic dermatitis and psoriasis as well as chronic lung diseases (chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and cystic fibrosis), which are associated with the state of the lung microbiome. Interestingly patients with COPD have an increased incidence of inflammatory bowel disease (IBD), another disease that is associated with dysbiosis. The microbiota has also been implicated in various cancers, including pancreatic, gastric, liver and colorectal, a recent review highlights the increased risk of developing pancreatic cancer associated with dysbiosis of mouth and gut microbiota. In general, there is increasing evidence that the dynamic changes within the microbiome due to environmental factors such as diet and xenobiotics can affect both immune and cancer cells, whereby certain microbiota compositions and functions may be beneficial for cancer prevention, while other components may promote cancer. In addition, these findings are expanding beyond organs that are proximal to the gut microbiota (e.g. colon), suggesting that systemic processes may be modulated by aspects of the microbiome, such as the example of COPD and IBD incidence [29].

Since many epidemiological studies reveal a link between bacterial infections and cancer incidence, and the number of bacterial mechanisms that can contribute to cellular transformation are most likely considerable larger than reported to date, we expect that the number of examples illustrating the role of bacterial infections in cancer formation will increase the coming years. It is also known that bacterial effectors from different species can act synergistically during host cell manipulation and then act in a symbiotic interspecies manner. These combined mechanisms can induce cell transformation and cancer in an even more complex manner and further contribute to the complexity of bacterial contributions to cancer [30].

Bacteria is regarded as tumor inhabitant due to the poor immune activity within tumors. Besides that, bacteria may take the advantage of oxygen tension and permissive carbon sources, therefore the tumor microenviron-

ment (TM) becomes a potential refuge for bacteria. It is noteworthy that the relation between cancer and bacteria is intertwined. Bacteria could have anti-tumor effect, as they may deplete nutrients that are required for metabolism of tumor cells. For instance, *Bifidobacteria* and *Salmonella* can invade solid tumors resulting in either retardation of neoplasm growth, or complete clearance of tumor. Conversely, bacteria may play a role in carcinogenesis, for example chronic urinary tract infection (UTI) is significantly associated with increasing breast cancer (BC) risk. Furthermore, intratumor bacteria may act as cancer allies and support its development, for instance, acute bacterial infection increases metastasis to the lung and *Helicobacter pylori* has implicated in gastric cancer development. Understanding how could bacteria influence cancer cells may help to elucidate cancer progression and provide useful therapeutic targets for treatment and prevention of metastatic cancer. It was considered that *E. coli* stimulation implicated in increasing transcription levels of CD44. CD44 is a family of non-kinase transmembrane glycoproteins found on embryonic stem cells and on other cell types. Hyaluronic acid (HA) is the main ligand for CD44, which is a constituent of the extracellular matrix (ECM) and it is expressed by stromal and cancer cells. It illustrated that CD44 may serve as microorganisms binding site, so that *E. coli* could bind to HA adherent to CD44 on urothelial cells, which facilitates *E. coli* migration through epithelial cells [31].

Interestingly, when a biofilm is detected on a tumor, its flanking normal tissue is mostly also covered by biofilm, suggesting that it expands over long distances in the tumor environment. The underlying mechanisms for the preferential proximal presence of tumor-associated biofilms are still unclear. Once the tumor is formed the bacterial biofilms in concerted action with the exacerbated inflammation, enforces more mucus production within the tumor cells. This will however only occur when the underlying genetic alterations allow for sufficient differentiation of the tumor cells or mucin gene expression. Thus, in this scenario, bacterial biofilms first contribute to more tumor formation and in a second phase to a specific differentiation pattern. In a second scenario, biofilm formation is secondary to tumor initiation. In that case, the biofilms mainly contribute to tumor progression and possibly increasing mucus production, likely again in concerted action with inflammation [32].

A number of studies have demonstrated compositional alterations in the luminal or tissue-associated bacteria between healthy and colorectal cancer (CRC) patients. Among the various microorganisms contributing to the differences in bacterial composition, *Enterobacteriaceae* family members that carry the genotoxic *pks* gene island, enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) with the *B. fragilis* toxin (*bft*) gene, and *Fusobacterium nucleatum* have often been reported. However, the potential interactions between biofilm structures and cancer have

attracted less attention. Microbial factors may contribute to disease onset in patients with a hereditary form of CRC; familial adenomatous polyposis (FAP). *B. fragilis* and *Enterobacteriaceae* members have also been identified within mucosal biofilms of intestinal biopsies collected from patients with inflammatory bowel disease, suggesting intestinal inflammation also influences host susceptibility [33].

Investigation of microbial composition of feces and mucosal microbiota along with tumor-bearing double-knockout mice revealed the duplicated results the enlarged colonization of *Escherichia-Shigella* and *Parabacteroides*. The inflammation also contributed to the density of *Akkermansia*, *Bacteroides*, and *Parabacteroides* in the fecal samples. *Lactobacilli*, *Lachnospiraceae*, and *Muribaculaceae* showed limited growth. In summary, chronic inflammation aggravates colonic tumorigenesis under mismatch repair deficiency and is associated with a shift in microbiota composition. Specific bacterial strains in the intestinal tract can lead to hyperproliferation by WNT-pathway activation, to DNA damage by bacterial toxins and to inflammation in the adjacent mucosa by destruction of the mucus layer enabling bacterial-epithelial contacts. In humans, fecal samples from patients with a carcinoma are enriched in species belonging to the genus *Bacteroides*, *Parabacteroides* and *Escherichia*, besides others, compared to patients with adenomas and healthy controls. These bacterial taxa are also associated with inflammation and carcinogenesis in mouse model [34].

That *F. nucleatum* nucleic acids are present in colorectal cancer tissues has since been confirmed in several different studies using varied molecular approaches (16S ribosomal RNA (rRNA) gene amplicon sequencing, DNA sequencing (DNA-seq), RNA sequencing (RNA-seq) and directed quantitative PCR (qPCR)) and with fluorescent in situ hybridization. Such imaging-based data of bowel tumours suggest that *F. nucleatum* is in intimate association with the colorectal crypts and is perhaps even intracellular. Further, and very importantly, that viable *F. nucleatum* is present in these tissues has been verified by isolating *F. nucleatum* strains directly from biopsy samples and from patient-derived xenografts passaged in mice. What remains less clear is the breadth of these pathways that can be influenced by cancer-associated microorganisms such as *F. nucleatum* that shapes the tumour microenvironment [35].

Bacterial transcriptome that associated bacterial biofilms have been implicated in colorectal cancer (CRC), but it is still unclear what genes these microbial communities express and how they influence the host. MicroRNAs regulate host gene expression and have been explored as potential biomarkers for CRC. The murine response to different microbial communities (derived from CRC patients or healthy people) was evaluated through RNA and microRNA sequencing. These findings may lead to the development of new biomarkers and ther-

apeutics for identifying and treating biofilm-associated colorectal cancers (CRCs) [36].

Diagnostic tests designed to determine the presence of biomarkers are very useful not only for diagnosis, but also for assessing the patient's prognosis and for developing therapies aimed at combating the onset and progression of tumors. Some genotoxins produced by enteric pathogenic species such as *Salmonella*, *Escherichia*, and *Campylobacter* have a synergistic effect on carcinogenesis. However, there are ongoing debates on the use of *F. nucleatum* as a reliable CRC biomarker. Not only the method for microbial detection is important in this context, but also the predictive accuracy of microbial biomarker(s) using larger population-scale studies that also take into account the differences due to ethnicity and geography [37].

Preliminary studies suggested a possible correlation of microbiota with Barrett's esophagus (BE) and esophageal adenocarcinoma (EAC), where the need for tools to ameliorate its poor prognosis is mandatory. Pilot study identifies a unique microbial structure and function profile for BE and EAC, as well as for metaplastic and near-normal areas. Microbiological diagnostics may open up new opportunities in the advancement of therapeutic approaches that require detailed studies of the microbiota shift and that can also serve as an additional source for determining the diagnosis. A previous report on reflux esophagitis and BE characterized distal esophagus microbiota into two types. Type I microbiome was correlated with normal esophagus and, mainly, contained Gram-positive bacteria, primarily Firmicutes, and especially *Streptococcus*. Type II microbiome, mainly associated with reflux esophagitis and BE, was predominated by Gram-negative anaerobes and microaerophiles (phyla Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria, and Spirochaetes). Further studies established that the dominant taxon within the healthy esophagus is *Streptococcus* and that the EAC cascade is depicted by a shift towards a prevalence of Gram-negative species. While following analyses have not replicated these observations, others have included the increase enrichment of specific Gram-negative species such as *Campylobacter* and *Fusobacterium* in the EAC process. Data confirms the characteristics of normal microbiota at esophageal level, with *Streptococcus* representing the main component. Beside this, it portrays EAC as an extreme dysbiotic perturbation of metaplastic mucosa (BEM) microbiota, which is dominated by Gram-negative anaerobes. The enrichment of oral organisms is increasingly being shown across several types of tumor. The identification of the microbial communities associated with cancer is of crucial importance in order to find risk factors and to hypothetically guide surveillance protocols. Thus, if coupled, genetic and microbial markers may help to prevent EAC or detect it at earlier, treatable stages, reducing the need for repeated surveillance procedures on large number of patients who

never progress to cancer, thus ameliorating the management of this debilitating disease [38].

Currently, around 20% of neoplasms worldwide can be attributed to infections, with approximately 1.2 million cases annually. The research in the microbiome field and mainly the role of bacteria in cancer pathogenesis is rapidly evolving, with more than 100 trillion bacteria already identified in the human body. Currently, there is substantial evidence pointing to the role of bacterial microbiota in cancer pathogenesis. In this regard, *H. Pylori* was highly correlated with the development of gastric adenocarcinoma and MALT lymphoma. *S. Typhi* was also reported to have a major impact in gallbladder cancer, especially in patients with gallbladder stones. *S. gallolyticus* was linked to colorectal cancer. Therefore, currently bacterial eradication is highly recommended for cancer treatment and prevention, mainly in gastric cancer and MALT lymphoma, while cholecystectomy remains the ideal prevention modality of gallbladder cancer [39].

Group A *Streptococcus* (GAS) provides colonization through a collagen-like protein 1 (Scl1) that can bind to two forms of fibronectin type III (FnIII) – cellular and within tenascin-C. Selective interaction of the globular domain the streptococcal collagen-like protein 1 (Scl1) with different forms of fibronectin expedited adhesion and biofilm formation. Similarly, cellular fibronectin isoforms and tenascin-C are present in the tumor microenvironment. Consistent with this, FnIII repeats mediate GAS attachment to and enhancement of biofilm formation on matrices deposited by cancer-associated fibroblasts and osteosarcoma cells. Interestingly, the aforementioned extracellular matrix (ECM) proteins components are also constituents of tumor microenvironment and our initial experiments suggest Scl1 has the capacity for targeting solid tumors. These data collectively support the premise for utilization of the Scl1-FnIII interaction as a novel method of anti-neoplastic targeting in the tumor microenvironment [40].

Several antineoplastic drugs that exhibited activity against *S. mutans*, including tamoxifen, doxorubicin, and ponatinib, also possessed activity against other Gram-positive bacteria, further validating the AK assay. Ponatinib is a tyrosine kinase inhibitor that has a mechanism of action similar to that of the well-known "rationally designed" drug imatinib (Gleevec), used in the treatment of chronic myeloid leukemia. To date, no known antimicrobial activity of ponatinib has been reported, though imatinib has been shown to accentuate the bactericidal activity of macrophages against *Mycobacterium tuberculosis* and to inhibit the phosphorylation of CagA, a *Helicobacter pylori* virulence factor. While the genome of *S. mutans* does not encode tyrosine kinases or proteins with significant homology to the *Helicobacter* CagA, it does encode several ABC transporters with significant homology to the human target for leukemia (ABCG2). Secondary assays revealed

that ponatinib inhibited growth of *S. mutans* planktonic cultures and was able to inhibit biofilm formation, as well as induce AK release from preformed biofilms. The antibacterial activity of ponatinib against *S. mutans* is a novel finding. The adenylate kinase (AK) assay was originally adapted as a highthroughput method to detect lysis of fungal cells. Since then, it has been optimized for use with bacteria in high-throughput screens of the ESKAPE (Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, and Enterobacter species) pathogens, as well as *M. tuberculosis*. Drug repurposing, also known as repositioning, has gained momentum, mostly due to its advantages over de novo drug discovery, including reduced risk to patients due to previously documented clinical trials, lower drug development costs, and faster benchtop-to-clinic transition [41].

The prevention of bacterial biofilm formation is one of the major current challenges in microbiology. It was demonstrated different mechanisms of action for individual compounds, from induction of replicative stress to disbalance of cation homeostasis to inhibition of bacterial attachment to the surface. Study demonstrates the potential of drug repurposing for the prevention of bacterial biofilm formation and suggests that also for other bacteria, the activity spectrum of antibiofilm compounds is likely to be broad [42].

Although many bacteria are carcinogens and tumor promoters, some have shown great potential towards cancer therapy. Several species of bacteria have shown an impressive ability to invade and colonize solid tumors, which has often led to neoplasm growth retardation and tumor clearance. Different strains of Clostridia, Lactococcus, Bifidobacteria, Shigella, Vibrio, Listeria, Escherichia, and Salmonella have been evaluated against cancer in animal models. Obligate or facultative anaerobic bacteria find favorable niches within the hypoxic and necrotic regions of the tumor. The systemic administration of bacteria can lead to their entry in the tumor tissue, proliferation, and the formation of a necrotic region by reducing oxygen and the nutrient supply. Thus, it causes the tumor cells in the center of the solid tumor to die from starvation and suffocation. Additionally, the bacteria, along with several other mechanisms have the ability to fight cancer cells, the most important of which include: (i) enhancing human immunity, (ii) as a carrier for cancer therapeutic agents, (iii) releasing substances (iv) forming biofilms, and (v) invading and colonizing the solid tumor [43].

Bacteria can colonize and proliferate in tumor microenvironments (TMEs) at a tumor-to-normal tissue ratio exceeding 10,000; thus, quorum sensing (QS) can be used as a gene expression switch. One example of QS system regulation can be autoinducer, synthetic LuxI protein, and the transcription protein LuxR. The acylhomoserine lactone (AHL) produced by LuxI, which de-

pends on bacterial density, activates LuxR and promotes transcription of its target genes. AHL concentration-dependent QS systems have been used successfully to highly express heterologous proteins in bacteria-colonizing tumors. The QS approach has been used to introduce a variety of gene circuits [44].

Once inside the tumor, the tumor-targeting *Salmonella* with this gene circuit underwent repeated cycles of population expansion and regression by autolysis in response to the density of bacterial cells. The lysis of the cells directly released the anticancer drug made by the bacteria. Thus, this gene circuit provided maximal release of the therapeutic payload through synchronized cell lysis and increased safety by maintaining the intratumoral bacterial population at a defined size, consequently minimizing the risk of a devastating systemic inflammatory response. This example illustrates the potential of gene networks to coordinate the behavior of bacteria at the population level in response to a particular environmental cue for an increased therapeutic index. Tumor-targeting bacteria have further been shown to drive the G0/G1 to S/G2/M cell cycle transition of tumor cells, making them more susceptible to chemotherapy. Conversely, therapies with small molecules targeting tumor vasculature can enlarge the hypoxic niche inside the solid tumor, consequently increasing bacterial colonization, which is particularly important for tumors without extensive hypoxia. In addition, intratumoral bacterial infection can modulate antitumor immune response both systemically and in the tumor microenvironment, making it attractive to combine live bacteria with other systemic immunotherapeutic approaches such as immune checkpoint blockade [45].

Biofilm can be exploited as potential anti-cancer agents due to its ability to deliver therapeutics and to curb the spread of metastatic tumors. Anti-cancer agents induced and promoted biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* during cancer treatment with hydroxyurea and doxorubicin. To escape the drug attack, the bacteria growing on the cancer cells are triggered by an SOS response, which is an inducible DNA damage repair system. This leads to the development of various unique bacterial phenotypes that attack or penetrate the cancer cells. Also, DNA and many proteins are released by the bacteria which coat the cancer cells and halt the metastatic escape of the tumor.

Cancer is a multifactorial disease and the use of bacteria for cancer therapy as an immunostimulatory agent or as a vector for carrying the therapeutic cargo is a promising treatment method. Several clinical trials are underway to test the efficacy of bacterial therapy on human subjects. However, a major problem with bacteria mediated cancer therapy is the toxicity. The dose for obtaining therapeutic effect may be toxic and have deleterious effects whereas lower doses can affect the treatment efficacy. The balance between the benefit and safety of the trial subject must be maintained. Appropri-

ate techniques and measures must be adopted to evaluate the immune response of the subject and the overall therapeutic benefit. Differences in tumor structure between preclinical animal models and the human subjects can impact bacterial penetration and proliferation in the tumor. Hence, optimization of the dose and route of administration is critical. Moreover, bacterial clearance by the immune system before reaching the tumor site may result in the failure of treatment. Also, any mutations in the bacteria may result in the therapeutic loss and cause exaggerated infections. However, the use of recombinant DNA technology has mostly solved the safety concerns [46]. Therefore, the world has turned to an alternative solution, which is the use of genetically engineered microorganisms; thus, the use of living bacteria targeting cancerous cells is the unique option to overcome these challenges. Bacterial therapies, whether used alone or combination with chemotherapy, give a positive effect to treat multiple conditions of cancer. Also, bacteria can be used as vectors for drug, gene, or therapy, and this is a great step to treat cancer. There are several unique mechanisms by which bacteria can colonize a tumor, compete for oxygen and nutrient sources, significantly diminish angiogenesis, and ultimately reduce the proliferation of tumor cells. To this end, an attenuated wild strains of *Salmonella typhimurium* with a ppGpp synthesis defect were analyzed and it was established that bacteria could accumulate in tumors after intravenous administration to various types of tumor-bearing mice. Solid tumors were especially sensitive with extensive hemorrhagic areas. Most bacteria have the ability to attack and colonize cancer cells, and in best cases, this leads to the treatment of cancer completely. The recent studies demonstrated that the microbiome within the human body targeted the tumor cells because of decreased immune activity in the necrotic cores of tumor. Some bacteria can grow into tumors that are preferred for reproduction by consuming food and oxygen, causing cancer cells to starve and suffocate. This phenomenon opened the doors to the possibility of using nonpathogenic bacteria to deliver drugs into the tumor [47].

Several bacterial strains/species have been discovered to possess inherent oncolytic potentials to invade and colonize solid tumors in vivo. Anti-cancer drugs cause the induction of biofilm formation during cancer treatment, which results in metastasis distraction. In addition to disrupting metastasis, the biofilm can modify the metabolism of the tumor, such as affecting the regulator of cell proliferation of colon cancer. Also, the bacterial macromolecules necessary for biofilm formation such as proteins and DNA coat cancer cells to block metastasis. For example, polysaccharides released by *Streptococcus agalactiae* inhibit adhesion of cancer cells to endothelial cells, an essential step in cancer metastasis. Furthermore, demonstrates the potential application of iron oxide nanowires from a biofilm waste produced by bacteria

(*Mariprofundus ferroxydans*) as a new multifunctional drug carrier for cancer therapy and cancer hyperthymia. Bacterial biofilm has the potential for a new method of anti-cancer therapy, especially for metastases, but this issue requires further examination in consequence the lack of available data [48].

However, the variability in the composition of the extracellular polymeric substance (EPS) matrix and the interactions among the various components add new levels of complexity and provide challenges for the development of EPS-targeting therapeutics. Treating biofilm infections requires combination therapies or those that target more than one component of the complex biofilm microenvironment, similar to tumourogenesis. Many biofilm management strategies being devised in the clinic and used by surgeons, are largely based on an approach from cancer treatment: early and aggressive irrigation and debridement for physically removal and local delivery of high and sustained antimicrobial chemotherapy. Thus, eliminating existing biofilms may require simultaneous degradation of the protective EPS matrix, and targeting and killing both resident microorganisms and dispersed cells. Thus, the biological effects can be tuned to specifically target the biofilm microenvironment, degrade the matrix and kill resident bacteria, thereby eradicating the pathogenic niche with precision and minimal cytotoxicity to surrounding tissues [49].

A novel approach is bacteriotherapy, either used alone, or in combination with conventional methods, has shown a positive effect on regression of tumors and inhibition of metastasis. Bacteria-assisted tumor-targeted therapy used as therapeutic/gene/drug delivery vehicles has great promise in the treatment of tumors. Tumor regression was observed with applying bacteriotherapy solely or along with standard methods in experimental researches. The most common bacteria used in this field are the genera *Salmonella*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Listeria*, *Proteus*, and *Streptococcus*. The use of three species of bacteria, *Clostridia*, *Bifidobacteria*, and *Salmonellae* as vectors for delivering or expressing tumor suppressor genes, anti-angiogenic genes, suicide genes, or tumor-associated antigens has been tested in animal models bearing various tumors. One of the fundamental explanations for the lack of efficacy of radiotherapy in some solid tumors is the presence of hypoxic (i.e. poorly vascularized) zones that are resistant to radiation. It was found that bacteria under hypoxic conditions produced antibodies, which bind with factor 1 α enabled to affect the process of transcription of tumor cells. However, this limitation could be an advantage for other approaches, for example, the use of facultative or obligate anaerobic bacteria [50].

CONCLUSION

The bacterial influence on the tumor can produce dual effect as two sides of a coin. Understanding the intricacy and variability of biofilm biology and tumor's composition highlight the approaches of new models chemotherapy. Stress conditions and heterogeneous microenvironment may produce a similar answer of biofilm and tumor that closely associated with cellular constituents and modulated immune response. These dynamic properties lead to increased therapeutic index or facilitate synergy of bacterial and cancer cells. Further studies should focus the structural microbial and tumoral microenvironment that can be exploited to design unexplored and selective drug delivery approaches. Microorganisms can be represented as biomarkers of increased cancer risk that evaluate the patient's prognosis and aim to combat the progression of tumors. Engineering tumor-targeting bacteria may reveal potential tailor-made therapies and develop of personalized treatments. The combination of approaches of bacteriotherapy with chemotherapy can help in defeating the tumor heterogeneity accompanied with malignancy, drug-resistance and metastasis. This review covered biofilm and tumor properties related by microenvironment with "unique conceptual similarities". Genetic instability, multicellular cooperation, metabolic context are important subjects for further study to enhance the understanding the complex effects on different types of cells in divers microenvironmental conditions.

REFERENCES

1. Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics* (Basel). 2020; 9(2):59. doi: 10.3390/antibiotics9020059.
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/2/59>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32028684/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7167820/>
2. Bjarnsholt T., Buhlin K., Dufrêne Y. F., Gomelsky M., Moroni A., Ramstedt M. [et al.] Biofilm formation – what we can learn from recent developments. *J Intern Med*. 2018; 284(4): 332-45. doi:10.1111/joim.12782.
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/joim.12782>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29856510/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6927207/>
3. Maali Y, Journo C, Mahieux R, Dutartre H. Microbial Biofilms: Human T-cell Leukemia Virus Type 1 First in Line for Viral Biofilm but Far Behind Bacterial Biofilms. *Front Microbiol*. 2020; 11:2041. doi: 10.3389/fmicb.2020.02041.
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.02041/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33042035/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7523422/>
4. Berlanga M, Guerrero R. Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Microb Cell Fact*. 2016; 15(1):165. doi: 10.1186/s12934-016-0569-5.
View at: Publisher Site: <https://microbialcell-factories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-016-0569-5>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27716327/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5045575/>
5. Alav I, Sutton JM, Rahman KM. Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation. *J Antimicrob Chemother*. 2018; 73(8):2003-2020. doi: 10.1093/jac/dky042.
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/jac/article/73/8/2003/4913710>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29506149/>
6. Benoit DS, Koo H. Targeted, triggered drug delivery to tumor and biofilm microenvironments. *Nanomedicine* (Lond). 2016; 11(8):873-9. doi: 10.2217/nnm-2016-0014.
View at: Publisher Site: <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/nnm-2016-0014>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26987892/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/26987892>
7. Domingue JC, Drewes JL, Merlo CA, Housseau F, Sears CL. Host responses to mucosal biofilms in the lung and gut. *Mucosal Immunol*. 2020; 13(3):413-22. doi: 10.1038/s41385-020-0270-1.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41385-020-0270-1>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32112046/>
Scopus: <https://jhu.pure.elsevier.com/en/publications/host-responses-to-mucosal-biofilms-in-the-lung-and-gut>
8. Sadiq FA, Flint S, Li Y, Ou K, Yuan L, He GQ. Phenotypic and genetic heterogeneity within biofilms with particular emphasis on persistence and antimicrobial tolerance. *Future Microbiol*. 2017; 12:1087-107. doi: 10.2217/fmb-2017-0042.
View at: Publisher Site: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb-2017-0042>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28783379/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/28783379>
9. Yan J, Bassler BL. Surviving as a Community: Antibiotic Tolerance and Persistence in Bacterial Biofilms. *Cell Host Microbe*. 2019; 26(1):15-21. doi: 10.1016/j.chom.2019.06.002.
View at: Publisher Site: [https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128\(19\)30291-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312819302914%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128(19)30291-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312819302914%3Fshowall%3Dtrue)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31295420/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6629468/>
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312819302914>

10. Windels EM, Michiels JE, Van den Bergh B, Fauvart M, Michiels J. Antibiotics: Combatting Tolerance To Stop Resistance. *mBio*. 2019; 10(5):e02095-19. doi: 10.1128/mBio.02095-19.
View at: Publisher Site: <https://mbio.asm.org/content/10/5/e02095-19>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31506315/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6737247/>
11. Endo H, Inoue M. Dormancy in cancer. *Cancer Sci*. 2019; 110(2):474-80. doi: 10.1111/cas.13917.
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cas.13917>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30575231/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6361606/>
12. Magana M, Sereti C, Ioannidis A, Mitchell CA, Ball AR, Magiorkinis E, Chatzipanagiotou S, Hamblin MR, Hadjifrangiskou M, Tegos GP. Options and Limitations in Clinical Investigation of Bacterial Biofilms. *Clin Microbiol Rev*. 2018; 31(3):e00084-16. doi: 10.1128/CMR.00084-16.
View at: Publisher Site: <https://cmr.asm.org/content/31/3/e00084-16>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29618576/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6056845/>
13. Rizzato C, Torres J, Kasamatsu E, Camorlinga-Ponce M, Bravo MM, Canzian F, Kato I. Potential Role of Biofilm Formation in the Development of Digestive Tract Cancer With Special Reference to *Helicobacter pylori* Infection. *Front Microbiol*. 2019; 10:846. doi: 10.3389/fmicb.2019.00846.
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00846/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31110496/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6501431/>
14. Bisht K, Wakeman CA. Discovery and Therapeutic Targeting of Differentiated Biofilm Subpopulations. *Front Microbiol*. 2019; 10:1908. doi: 10.3389/fmicb.2019.01908.
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01908/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31507548/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6718512/>
15. Kayser J, Schreck CF, Gralka M, Fusco D, Hallatschek O. Collective motion conceals fitness differences in crowded cellular populations. *Nat Ecol Evol*. 2018; 3(1):125-34. doi: 10.1038/s41559-018-0734-9.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41559-018-0734-9>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30510177/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6309230/>
16. Gough A, Stern AM, Maier J, Lezon T, Shun TY, Chennubhotla C, Schurdak ME, Haney SA, Taylor DL. Biologically Relevant Heterogeneity: Metrics and Practical Insights. *SLAS Discov*. 2017; 22(3):213-37. doi: 10.1177/2472555216682725.
View at: Publisher Site: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2472555216682725>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28231035/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5464733/>
17. Hall CW, Mah TF. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev*. 2017; 41(3):276-301. doi: 10.1093/femsre/fux010.
View at: Publisher Site: <https://academic.oup.com/femsre/article/41/3/276/3089981>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28369412/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/28369412>
18. Mingzhou Guo, Yaojun Peng, Aiai Gao, Chen Du, James G. Herman. Epigenetic heterogeneity in cancer. *Biomark Res*. 2019; 7: 23. doi: 10.1186/s40364-019-0174-y.
View at: Publisher Site: <https://biomarkerres.biomed-central.com/articles/10.1186/s40364-019-0174-y>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31695915/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6824025/>
19. Stanta G, Bonin S. Overview on Clinical Relevance of Intra-Tumor Heterogeneity. *Front Med (Lausanne)*. 2018; 5:85. doi: 10.3389/fmed.2018.00085.
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2018.00085/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29682505/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5897590/>
20. Zhang Q, Lou Y, Bai XL, Liang TB. Intratumoral heterogeneity of hepatocellular carcinoma: From single-cell to population-based studies. *World J Gastroenterol*. 2020; 26(26):3720-36. doi: 10.3748/wjg.v26.i26.3720.
View at: Publisher Site: <https://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v26/i26/3720.htm>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32774053/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7383842/>
21. Rübber A, Araujo A. Cancer heterogeneity: converting a limitation into a source of biologic information. *J Transl Med*. 2017; 15(1):190. doi: 10.1186/s12967-017-1290-9.
View at: Publisher Site: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-017-1290-9>
22. Stanta G, Bonin S. A Practical Approach to Tumor Heterogeneity in Clinical Research and Diagnostics. *Pathobiology*. 2018; 85(1-2):7-17. doi: 10.1159/000477813.
View at: Publisher Site: <https://www.karger.com/Article/FullText/477813>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28750401/>
23. Gay L, Baker AM, Graham TA. Tumour Cell Heterogeneity. *F1000Res*. 2016; 5:F1000 Faculty Rev-238. doi: 10.12688/f1000research.7210.1.
View at: Publisher Site: <https://f1000research.com/>

- articles/5-238
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26973786/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4776671/>
24. Han Y, Jo H, Cho JH, Dhanasekaran DN, Song YS. Resveratrol as a Tumor-Suppressive Nutraceutical Modulating Tumor Microenvironment and Malignant Behaviors of Cancer. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(4): 925. doi: 10.3390/ijms20040925.
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/4/925>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30791624/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6412705/>
 25. Dharmaraja AT. Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Therapeutics and Drug Resistance in Cancer and Bacteria. *J Med Chem.* 2017; 60(8):3221-40. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b01243.
View at: Publisher Site: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jmedchem.6b01243>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28135088/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/28135088>
 26. Greten FR, Grivennikov SI. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity.* 2019; 51(1):27-41. doi: 10.1016/j.immuni.2019.06.025.
View at: Publisher Site: [https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(19\)30295-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS107476131930295X%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(19)30295-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS107476131930295X%3Fshowall%3Dtrue)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31315034/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6831096/>
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S107476131930295X>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/31315034>
 27. Yang L., Lin PC. Mechanisms that drive inflammatory tumor microenvironment, tumor heterogeneity, and metastatic progression. *Semin Cancer Biol.* 2017; 47:185-95. doi: 10.1016/j.semcancer.2017.08.001.
View at: Publisher Site: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044579X17302055?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28782608/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5698110/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/28782608>
 28. Armstrong H, Bording-Jorgensen M, Dijk S, Wine E. The Complex Interplay between Chronic Inflammation, the Microbiome, and Cancer: Understanding Disease Progression and What We Can Do to Prevent It. *Cancers (Basel).* 2018; 10(3):83. doi: 10.3390/cancers10030083.
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/2072-6694/10/3/83>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29558443/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5876658/>
 29. Johnson CH, Spilker ME, Goetz L, Peterson SN, Siuzdak G. Metabolite and Microbiome Interplay in Cancer Immunotherapy. *Cancer Res.* 2016; 76(21):6146-52. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0309.
View at: Publisher Site: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/76/21/6146>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27729325/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5093024/>
 30. van Elsland D, Neefjes J. Bacterial infections and cancer. *EMBO Rep.* 2018; 19(11):e46632. doi: 10.15252/embr.201846632.
View at: Publisher Site: <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embr.201846632>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30348892/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6216254/>
 31. Abd-El-Raouf R, Ouf SA, Gabr MM, Zakaria MM, El-Yasergy KF, Ali-El-Dein B. Escherichia coli foster bladder cancer cell line progression via epithelial mesenchymal transition, stemness and metabolic reprogramming. *Sci Rep.* 2020 Oct 22; 10(1):18024. doi: 10.1038/s41598-020-74390-5.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-74390-5>
 32. Li S, Peppelenbosch MP, Smits R. Bacterial biofilms as a potential contributor to mucinous colorectal cancer formation. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2019; 1872(1):74-9. doi: 10.1016/j.bbcan.2019.05.009.
View at: Publisher Site: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304419X19300320?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31201828/>
 33. Tomkovich S, Jobin C. Microbial networking in cancer: when two toxins collide. *Br J Cancer.* 2018; 118(11):1407-9. doi: 10.1038/s41416-018-0101-2.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41416-018-0101-2>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29773837/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5988818/>
 34. Lang M, Baumgartner M, Rożalska A, Frick A, Riva A, Jarek M, Berry D, Gasche C. Crypt residing bacteria and proximal colonic carcinogenesis in a mouse model of Lynch syndrome. *Int J Cancer.* 2020; 147(8):2316-26. doi: 10.1002/ijc.33028.
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.33028>
 35. Brennan CA, Garrett WS. Fusobacterium nucleatum - symbiont, opportunist and oncobacterium. *Nat Rev Microbiol.* 2019 Mar; 17(3):156-66. doi: 10.1038/s41579-018-0129-6.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41579-018-0129-6>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30546113/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6589823/>

36. Tomkovich S, Gharaibeh RZ, Dejea CM, Pope JL, Jiang J, Winglee K, Gauthier J, Newsome RC, Yang Y, Fodor AA, Schmittgen TD, Sears CL, Jobin C. Human Colon Mucosal Biofilms and Murine Host Communicate via Altered mRNA and microRNA Expression during Cancer. *mSystems*. 2020; 5(1):e00451-19. doi: 10.1128/mSystems.00451-19.
View at: Publisher Site: <https://msystems.asm.org/content/5/1/e00451-19/article-info>
URL: <https://www.meta.org/papers/human-colon-mucosal-biofilms-and-murine-host/31937674>
37. Longhi G, van Sinderen D, Ventura M, Turrioni F. Microbiota and Cancer: The Emerging Beneficial Role of Bifidobacteria in Cancer Immunotherapy. *Front Microbiol*. 2020; 11:575072. doi: 10.3389/fmicb.2020.575072.
View at: Publisher Site: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.575072/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33013813/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7507897/>
38. Lopetuso LR, Severgnini M, Pecere S, Ponziani FR, Boskoski I, Larghi A, Quaranta G, Masucci L, Ianaro G, Camboni T, Gasbarrini A, Costamagna G, Consolandi C, Cammarota G. Esophageal microbiome signature in patients with Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *PLoS One*. 2020; 15(5):e0231789. doi: 10.1371/journal.pone.0231789.
View at: Publisher Site: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0231789>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32369505/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7199943/>
39. Elsalem L, Jum'ah AA, Alfaqih MA, Aloudat O. The Bacterial Microbiota of Gastrointestinal Cancers: Role in Cancer Pathogenesis and Therapeutic Perspectives. *Clin Exp Gastroenterol*. 2020; 13:151-85. doi: 10.2147/CEG.S243337.
View at: Publisher Site: <https://www.dovepress.com/the-bacterial-microbiota-of-gastrointestinal-cancers-role-in-cancer-peer-reviewed-article-CEG>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32440192/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7211962/>
40. McNitt DH, Choi SJ, Allen JL, Hames RA, Weed SA, Van De Water L, Berisio R, Lukomski S. Adaptation of the group A Streptococcus adhesin Sc11 to bind fibronectin type III repeats within wound-associated extracellular matrix: implications for cancer therapy. *Mol Microbiol*. 2019; 112(3):800-19. doi: 10.1111/mmi.14317.
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.14317>
41. Saputo S, Faustoferri RC, Quivey RG Jr. A Drug Repositioning Approach Reveals that Streptococcus mutans Is Susceptible to a Diverse Range of Established Antimicrobials and Nonantibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 62(1):e01674-17. doi: 10.1128/AAC.01674-17.
View at: Publisher Site: <https://aac.asm.org/content/62/1/e01674-17>
42. Teteneva NA, Mart'yanov SV, Esteban-López M, Kahnt J, Glatter T, Netrusov AI, Plakunov VK, Sourjik V. Multiple Drug-Induced Stress Responses Inhibit Formation of Escherichia coli Biofilms. *Appl Environ Microbiol*. 2020; 86(21):e01113-20. doi: 10.1128/AEM.01113-20.
View at: Publisher Site: <https://aem.asm.org/content/86/21/e01113-20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32826218/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7580552/>
43. Yaghoubi A, Khazaei M, Hasanian SM, Avan A, Cho WC, Soleimanpour S. Bacteriotherapy in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(23):5880. doi: 10.3390/ijms20235880.
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/23/5880>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31771178/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6928964/>
44. Duong MT, Qin Y, You SH, Min JJ. Bacteria-cancer interactions: bacteria-based cancer therapy. *Exp Mol Med*. 2019; 51(12):1-15. doi: 10.1038/s12276-019-0297-0.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s12276-019-0297-0>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31827064/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6906302/>
45. Zhou S, Gravekamp C, Bermudes D, Liu K. Tumour-targeting bacteria engineered to fight cancer. *Nat Rev Cancer*. 2018; 18(12):727-43. doi: 10.1038/s41568-018-0070-z.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41568-018-0070-z>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30405213/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6902869/>
46. Sawant SS, Patil SM, Gupta V, Kunda NK. Microbes as Medicines: Harnessing the Power of Bacteria in Advancing Cancer Treatment. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(20):7575. doi: 10.3390/ijms21207575.
View at: Publisher Site: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/20/7575>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33066447/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7589870/>
47. Al-Hilu SA, Al-Shujairi WH. Dual Role of Bacteria in Carcinoma: Stimulation and Inhibition. *Int J Microbiol*. 2020; 2020:4639761. doi: 10.1155/2020/4639761.
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2020/4639761/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32908523/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7463420/>

48. Song S, Vuai MS, Zhong M. The role of bacteria in cancer therapy - enemies in the past, but allies at present. *Infect Agent Cancer*. 2018; 13:9. doi: 10.1186/s13027-018-0180-y.
View at: Publisher Site: <https://infectagents-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13027-018-0180-y>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29568324/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5856380/>
49. Koo H, Allan RN, Howlin RP, Stoodley P, Hall-Stoodley L. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2017; 15(12):740-55. doi: 10.1038/nrmicro.2017.99.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.99>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28944770/>
50. Sedighi M, Zahedi Bialvaei A, Hamblin MR, Ohadi E, Asadi A, Halajzadeh M, Lohrasbi V, Mohammadzadeh N, Amirani T, Krutova M, Amini A, Kouhsari E. Therapeutic bacteria to combat cancer; current advances, challenges, and opportunities. *Cancer Med*. 2019; 8(6):3167-81. doi: 10.1002/cam4.2148.
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cam4.2148>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30950210/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6558487/>

Article history
Received: 16.02.2021
Revision requested: 22.03.2021
Revision received: 28.02.2021
Accepted: 29.03.2021
Published: 31.03.2021

БІОПЛІВКА ТА ПУХЛИНА: ІНТЕРПРЕТАЦІЯ ВЗАЄМОДІЇ ТА СТРАТЕГІЇ ЛІКУВАННЯ. Огляд

Іваненко Н.О.

Донецький національний медичний університет, Кропивницький, Україна

natalimarkowskaj@gmail.com

Актуальність. Лікування твердих пухлин і інфекцій, викликаних біоплівкою, стикається із загальною проблемою: ліки часто не досягають і не вбивають ракові клітини та мікробні патогени через локальне гетерогенне середовище. Сучасні та перспективні протипухлинні та антибактеріальні агенти стикаються зі значними проблемами щодо цілі та підтримки активності у мікросередовищі, де виживають ракові клітини та мікробні патогени, які викликають спалахи захворювання. Частка бактеріальних інфекцій у формуванні злоякісних пухлин буде збільшуватися в найближчі роки. Об'єднання підходів, таких як ROS модуляції у клітинах, пухлини, викликані за сприяння мікробного запалення, є стратегією, націленою на злоякісні пухлини та бактерії. Крім того, бактерії можуть скористатися перевагами кисневого голодування та дозволених джерел вуглецю, тому мікросередовище пухлини стає потенційним притулком для бактерій. Примітно, що зв'язок між пухлиною та бактеріями тісно пов'язаний.

Мета. Проаналізувати подібність біоплівкового і пухлинного мікросередовища, що виробляється в умовах стресу та гетерогенного мікрооточення, для поєднання підходів бактеріотерапії з хіміотерапією, які можуть допомогти у зруйнуванні гетерогенності пухлини, пов'язаної зі злоякісними фенотипами раку, лікарською стійкістю і метастазами.

Метод. Аналітичний огляд літератури за ключовими словами з наукометричних баз даних PubMed, Wiley.

Результати. Бактерії ухиляються від антимікробного впливу в основному через персистенцію, або стійкість, яка може стати дрімаючою під час стаціонарної фази, і толерантність. Стійкі, толерантні до ліків та дрімаючі клітини раку в основному вивчалися в контексті пізнього рецидиву, особливо метастазів, в якому мікрооточення метастазів відіграє вирішальну роль. Біоплівки утворюються групами клітин в різних станах, що ростуть або не ростуть, метаболічно активних або неактивних в різних фракціях, в залежності від зрілості і хімічних градієнтів (O₂ і поживних речовин) біоплівок, що виробляють фізіологічну гетерогенність. Гетерогенність в мікросередовищі пухлини може бути описана як неклітинний автономний драйвер різноманітності ракових клітин; в дуже різноманітному мікрооточенні різні клітинні фенотипи можуть пройти селекцію або ні в різних областях пухлини. Гіпоксія, окислювальний стрес і запалення були ідентифіковані як позитивні регулятори метастатичного потенціалу, лікарської стійкості і онкогенних властивостей злоякісних пухлин. Так само кишкова паличка і небезпечні для життя інфекційні патогени, такі як золотистий стафілокок і мікобактерії туберкульозу, значно чутливі до змін внутрішньоклітинного окислювального середовища. Виникає альтернативна парадигма, яка полягає в тому, що багато видів раку можуть бути викликані комменсальною мікробіотою чи шляхом транслокації і приєднання мікробів до ракових клітин, або шляхом віддаленого вивільнення активних мікробних метаболітів при запаленні. Мікробні фактори, такі як *F. nucleatum*, *B. fragilis* та представники *Enterobacteriaceae*, можуть сприяти виникненню захворювання у пацієнтів зі спадковою формою колоректального раку; сімейним аденоматозним поліпозом. Ці результати можуть призвести до розробки нових біомаркерів та терапевтичних засобів для виявлення та лікування раку, асоційованого з біоплівкою. В даний час близько 20 % новоутворень у всьому світі можна віднести до інфекцій, причому щорічно реєструється близько 1,2 мільйона випадків захворювання. Кілька протипухлинних препаратів, які проявляли активність проти *S. mutans*, включаючи тамоксифен, доксорубіцин і понатиніб, також мали активність проти інших грампозитивних бактерій. Перепрофілювання ліків, також відоме як репозиція, набрало обертів, головним чином, завдяки своїм перевагам перед відкриттям ліків *de novo*, включаючи зниження ризику для пацієнтів через раніше задокументовані клінічні випробування, зниження витрат на розробку ліків і більш швидкий перехід від випробувань до клініки. Хоча багато

бактерій є канцерогенами і промоторами пухлин, деякі з них показали великий потенціал в лікуванні раку. Кілька видів бактерій продемонстрували вражаючу здатність проникати в тверді пухлини і колонізувати їх, що часто призводило до уповільнення зростання новоутворень і їх кліренсу. Пізні штами *Clostridia*, *Lactococcus*, *Bifidobacteria*, *Shigella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Escherichia*, та *Salmonella* були оцінені проти злоякісних пухлин на тваринних моделях.

Висновок. Рак – це багатофакторне захворювання, і використання бактерій для терапії раку, як імуностимулюючого агента або вектора для перенесення терапевтичного вантажу, є перспективним методом лікування. Тому світ звернувся до альтернативного рішення, яке полягає у використанні генно-інженерних мікроорганізмів. Використання живих бактерій, націлених на ракові клітини, є унікальним варіантом подолання цих проблем. Бактеріальна терапія, незалежно від того, чи використовується вона окремо або в поєднанні з хімотерапією, дає позитивний ефект при лікуванні декількох станів раку.

Ключові слова: біоплівка, пухлина, гетерогенність, біомаркер, репозиція, бактеріотерапія.

БИОПЛЁНКА И ОПУХОЛЬ: ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ.

Обзор

Иваненко Н. А.

Донецкий национальный медицинский университет, Кропивницкий, Украина

natalimarkowska@gmail.com

Актуальность. Лечение твёрдых опухолей и инфекций, вызванных биопленкой, сталкивается с общей проблемой: лекарства часто не достигают и не убивают раковые клетки и микробные патогены из-за гетерогенности местного микроокружения. Современные и перспективные противоопухолевые и антибактериальные агенты сталкиваются с серьёзными проблемами в отношении цели и поддержки активности в микроокружении, где раковые клетки и микробные патогены выживают и вызывают начало заболевания. Роль бактериальных инфекций в формировании рака будет увеличиваться в ближайшие годы. Объединение подходов, таких как ROS модуляция в клетках, опухоль со способствующим микробным воспалением, может стать стратегией нацеливания на рак и бактерии. Кроме того, бактерии могут воспользоваться преимуществами кислородного голодания и доступными источниками углерода, поэтому микросреда опухоли становится потенциальным убежищем для бактерий. Примечательно, что связь между раком и бактериями тесно переплетена.

Цель: проанализировать сходство биопленочной и опухолевой сред, вырабатываемой в условиях стресса и гетерогенного микроокружения, для сочетания подходов бактериотерапии с химиотерапией, которые могут помочь в деструкции гетерогенности опухоли, связанной со злокачественными фенотипами рака, лекарственной устойчивостью и метастазами.

Метод. Аналитический обзор литературы по ключевым словам из наукометрических баз данных PubMed, Wiley.

Результаты. Бактерии уклоняются от антимикробного воздействия в основном из-за персистенции, или устойчивости, которая может стать дремлющей во время стационарной фазы, и толерантности. Стойкие, толерантные к лекарствам и дремлющие клетки рака в основном изучались в контексте позднего рецидива, в особенности метастазов, в котором микросреда метастазов играет решающую роль. Биопленки образуются группами клеток в различных состояниях, растущих или нерастущих, метаболически активных или неактивных в различных фракциях, в зависимости от зрелости и химических градиентов (O_2 и питательных веществ) биопленок, производящих физиологическую гетерогенность. Гетерогенность в микроокружении рака может быть описана как неклоточный автономный драйвер разнообразия раковых клеток; в очень разнообразном микроокружении различные клеточные фенотипы могут пройти селекцию или нет в различных областях опухоли. Гипоксия, окислительный стресс и воспаление были идентифицированы как положительные регуляторы метастатического потенциала, лекарственной устойчивости и онкогенных свойств при раке. Точно так же кишечная палочка и опасные для жизни инфекционные патогены, такие как золотистый стафилококк и микобактерии туберкулеза, значительно чувствительны к изменениям внутриклеточной окислительной среды. Возникающая альтернативная парадигма заключается в том, что многие виды рака могут быть вызваны комменсальной микробиотой или путем транслокации и присоединения микробов к раковым клеткам, либо путем отдаленного высвобождения активирующих воспаление микробных метаболитов. Микробные факторы, такие как *F. nucleatum*, *B. fragilis* и представители *Enterobacteriaceae*, могут способствовать возникновению заболевания у пациентов с наследственной формой колоректального рака; семейным аденоматозным полипозом. Эти результаты могут привести к разработке новых биомаркеров и терапевтических средств для выявления и лечения рака, ассоциированного с биопленкой. В настоящее время около 20 % новообразований во всем мире можно отнести к инфекциям, причем ежегодно регистрируется около 1,2 миллиона случаев заболевания. Несколько противоопухолевых препаратов, которые проявляли активность против *S. mutans*, включая тамоксифен, доксорубин и понатиниб, также обладали активностью против других грамположительных бактерий. Перепрофилирование лекарств, также известное как репозиция, набрало обороты, главным образом, благодаря своим преимуществам перед открытием лекарств de novo, включая снижение риска для пациентов из-за ранее задокументированных клинических испытаний, снижение затрат на разработку лекарств и более быстрый переход от испытаний к клинике. Хотя многие бактерии являются канцерогенами и промоторами опухолей, некоторые из них показали большой потенциал в лечении рака. Несколько видов бактерий продемонстрировали впечатляющую способность проникать в твердые опухоли и колонизировать их, что часто приводило к замедлению роста новообразований и их клиренсу. Различные штаммы *Clostridia*, *Lactococcus*, *Bifidobacteria*, *Shigella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Escherichia*, и *Salmonella* были оценены против рака на животных моделях.

Вывод. Рак является многофакторным заболеванием, и использование бактерий для терапии рака в качестве иммуностимулирующего агента или вектора для переноса терапевтического груза является перспективным методом лечения. Поэтому мир

обратился к альтернативному решению, которое заключается в использовании генно-инженерных микроорганизмов. Использование живых бактерий, нацеленных на раковые клетки, является уникальным вариантом преодоления этих проблем. Бактериальная терапия, независимо от того, используется ли она отдельно или в сочетании с химиотерапией, дает положительный эффект при лечении нескольких состояний рака.

Ключевые слова: биопленка, опухоль, гетерогенность, биомаркер, репозиция, бактериотерапия.

ПАТОГЕНЕЗ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ УДАЛЕНИЯ ЗУБА. Обзор

Маланчук В.А. <https://orcid.org/0000-0001-8111-0436>

Топчий Д.В. <https://orcid.org/0000-0002-3305-3075>

Джавадиасл А. <https://orcid.org/0000-0002-2689-9670>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

tpch03@gmail.com

Актуальность. Воспаление лунки удаленного зуба является одним из наиболее частых (от 3 до 40%) осложнений операции удаления зуба. Отсутствие единого мнения о причинах возникновения альвеолита и отсутствие установленной ключевой роли одного из многих разнообразных факторов патогенеза затрудняют проведение эффективных профилактических мероприятий для предупреждения его развития.

Цель: использовать данные литературы для обобщения и систематизации разнообразных взглядов на этиологию, патогенез, методы профилактики и лечения альвеолитов.

Материалы и методы. Проанализированы доступные литературные научные источники, где рассмотрены современные взгляды на проблему лечения альвеолитов. Обобщены и систематизированы современные подходы к пониманию этиологии, патогенеза, профилактики и методам лечения альвеолитов.

Результаты. Большинство авторов, анализируя основные причины и сопутствующие факторы возникновения альвеолита, предлагают для его профилактики: уменьшить травматичность операции, соблюдать асептику и правильные назначения в послеоперационном периоде, а также оптимизировать процессы заживления лунки, используя местно разнообразные лекарственные препараты.

Вывод. Профилактика воспалительных осложнений после операции удаления зуба базируется на обеспечении образования в лунке зуба устойчивого сгустка крови, который должен обеспечить нормальную регенерацию поврежденных тканей.

Ключевые слова: альвеолит, удаление зуба, лунка зуба, сгусток крови, остеорегенерация.

Проблема возникновения альвеолита после операции удаления зуба связана с его большой распространенностью (от 3 до 40 % от всех постэкстракционных осложнений) и недостаточно эффективными методами его профилактики и лечения. Клиницисты должны осознавать сложность и многофакторность этиологии альвеолита, а также существующих концепций профилактики и лечения альвеолита. Различные методы эффективного лечения и профилактики обсуждались как на основе более интуитивного механистического понимания альвеолита, так и на основе данных, основанных на доказательствах [2, 5, 16, 19, 25, 28].

Большинство исследователей в этиологии развития альвеолита выделяют: инфекционный и травматический факторы, высокую фибринолитическую активность слюны и тканей лунки зуба, изменения иммунологического и гормонального статуса, сопутствующие заболевания, гигиеническое состояние и степень санации полости рта, вредные привычки, возраст пациентов и множество других причин.

Отсутствие единого мнения о причинах возникновения альвеолита и отсутствие установленной ключевой роли одного из многих разнообразных факторов патогенеза его развития нашло отражение в многообразии используемой терминологии заболевания [15].

Альвеолит впервые был описан Кроуфордом в 1896 году. Для обозначения данного заболевания используют следующие термины: «альвеолит»

(alveolitis), «альвеолярный остит» (alveolar osteitis), «локализованный остит» (localized osteitis), «сухой болезненный альвеолит» (alveolitis sicca dolorosa), «локализованный альвеолярный остит» (localized alveolar osteitis), «фибринолитический альвеолит» (fibrinolytic alveolitis), «септическая лунка» (septic socket), «некротическое гнездо» (necrotic socket), «луночковая боль» (alveolalgia) [28].

Бирн в 1973 г. назвал воспалительное осложнение после удаления зуба «фибринолитический альвеолит» (fibrinolytic alveolitis). Это самый точный из всех терминов, хотя наименее используемый в литературе. В норме послеоперационная регенерация лунки удаленного зуба происходит с активацией тромбоцитов, полимеризацией фибрина и формированием кровяного сгустка. Этот процесс идет параллельно с миграцией нейтрофильных гранулоцитов, моноцитов и фибробластов. Затем происходит замещение сгустка крови грануляционной тканью с одновременной эпителизацией поверхности лунки. В дальнейшем грануляционная ткань трансформируется в зрелую соединительную ткань, на основе которой происходит остеорегенерация (оссификация лунки).

На клеточном уровне процесс формирования зрелой костной ткани лунки зуба происходит эндондральным и внутримембранным путем. Внутримембранный механизм формирования костной ткани начинается с внутритканевой компрессии и повыше-

ния ее плотности. Это приводит к дифференцировке преостеобластов, расположенных в минерализованной матрице, и их трансформации в остеобласты, а затем в остециты [8, 11].

Патогенез альвеолита можно рассматривать как одно из проявлений нарушения нормальной регенерации лунки после удаления зуба.

По мнению ряда авторов, главная роль в развитии воспаления лунки зуба принадлежит сочетанию нескольких локальных и системных факторов, приводящих к фибринолизу сгустка крови, а затем его инфицированию и некротическому распаду [14, 15, 21, 28, 29].

Было установлено, что травматическое удаление зуба сопровождается высвобождением плазмينا – тканевого активатора фибринолиза сгустка крови.

Болевой симптом после удаления зуба является главной причиной обращения пациентов к врачу. Усиление боли в лунке удаленного зуба связывают с появлением в лунке ферментов кининогеназы и брадикининов, которые проникают в нее из поврежденной костной раны и играют ключевую роль в развитии симптома постэкстракционной луночковой боли.

Наблюдения некоторых авторов показывают, что травма стенок лунки во время удаления зуба часто приводит к развитию травматического тромбоза кровеносных сосудов и снижению резистентности тканей к микробному заражению послеоперационной раны [8, 30].

Существует объективная обратная связь между опытом хирурга и частотой появления альвеолита. Продолжительное по времени, сложное и травматичное удаление зубов, часто связанное с недостаточной квалификацией хирурга, являются факторами риска в развитии альвеолита [1, 22].

Соблюдение правильной тактики врача в послеоперационном периоде, заключающейся в наблюдениях за состоянием раны, имеет большое значение в предупреждении развития воспалительных осложнений.

После завершения операции удаления зуба хирурги иногда необоснованно проводят интенсивное промывание послеоперационной раны растворами антисептиков. Также частые многократные его повторения в послеоперационный период препятствуют сохранению кровяного сгустка и увеличивают продолжительность регенерации лунки [27].

Подобная причинно-следственная связь развития альвеолита также имеет место при физической дислокации кровяного сгустка из лунки зуба, вызванная неаккуратным обращением пациента с лункой или отрицательным давлением из-за питья через соломинку, курения и других причин.

Было замечено, что проведение чрезмерно травматичного кюретажа лунки зуба, для удаления периапикального воспалительного очага или для получения

сгустка крови в случае «сухой лунки», может сопровождаться повреждением костных стенок альвеолы и создавать ворота для проникновения в нее бактерий.

Травма от агрессивного кюретажа лунки вызывает воспаление костного мозга альвеолярного отростка челюсти. Кюретаж лунки усиливает местную фибринолитическую активность сгустка крови и способствует избыточному высвобождению клеточных медиаторов воспаления [30].

Способствовать развитию альвеолита могут, по мнению некоторых авторов, мелкие костные фрагменты альвеолы или корней зубов, которые остаются в лунке после удаления зуба при недостаточно тщательной и внимательной послеоперационной ревизии раны [3].

Существенную роль в развитии альвеолита отводят уровню санации зубов и поддержанию гигиены полости рта. Установлено, что степень бактериальной обсемененности полости рта увеличивается у пациентов с очагами местного воспалительного процесса, таких как кариес, пародонтит, перикоронит или хронический периодонтит зубов.

Принято считать, что бактериальная микрофлора полости рта является основным риском развития альвеолита. Высказывается предположение, что анаэробные бактерии, особенно *Treponema denticola*, обнаруженная в полости рта при периодонтите зубов, также присутствуют в лунке удаленного зуба, что доказывает бактериальную природу альвеолита [14].

В экспериментах *in vitro* было установлено, что бактерии в лунке удаленного зуба, благодаря высвобождению бактериальных пирогенов, обладают выраженной плазминоподобной и фибринолитической активностью.

Несмотря на большую роль бактерий в этом процессе, прямая причинно-следственная связь определенного вида микрофлоры в возникновении альвеолита, по мнению других исследователей, не является доказанной [3].

По наблюдениям Riba-Terés N. (2020), наиболее часто обнаруживаемыми бактериями в лунке зуба были *Prevotella bivia*, *Fusobacterium*, *Parvimonas micra* и *Peptostreptococcus*. Исследования показали, что микрофлора у пациентов с альвеолитом отличалась от микрофлоры пациентов без послеоперационных осложнений. Эти результаты показывают, что бактерии могут играть важную роль в патогенезе заболелания.

Так, в эксперименте общее содержание бактерий в альвеолярной крови до наложения швов на лунку зуба показало недостаточную корреляцию с пусковым моментом развития альвеолита. Однако, у 75% пациентов с альвеолитом обнаружен избыточный рост аэробов в лунке зуба, но у 47% из них послеоперационный период протекал без клинических проявлений альвеолита [19].

Возраст пациентов является одним из существенных факторов риска альвеолита. Замечено, что альвеолит чаще развивается у лиц старших возрастных групп [1]. Возможно, это связано с замедлением метаболизма, ослаблением иммунитета и регенеративных способностей организма.

Некоторые исследования сообщают, что увеличение риска развития альвеолита связано с применением анестетика с вазоконстрикторами. Доказано, что это вызывает ишемию тканей альвеолы и затрудняет ее заполнение кровью, а это приводит к появлению «сухой лунки». Кроме того, гипоксия тканей вследствие вазоконстрикции уменьшает антимикробную активность гранулоцитов и может способствовать развитию альвеолита [23].

Исследования других авторов свидетельствуют о том, что продолжительность ишемии тканей окружающих лунку зуба длится примерно два часа, а затем следует продолжительный период реактивной гиперемии, что доказывает несущественную роль вазоконстрикторов в развитии воспаления в лунке зуба [15].

Фибринолитическая теория Бирна объясняет, что продолжительная травма во время удаления зуба или инфицирование лунки вызывают усиление локализованного воспаления в кости, которое вызывает локальное высвобождение активаторов плазминогена.

Медикаментозная обработка воспаленной лунки является серьезной проблемой для всех стоматологов из-за сильной боли наряду с частыми посещениями пациента. Некоторые авторы отметили замедление заживления и сохранение признаков воспаления, когда лунки были туго затампонированы Alvogyl.

В работах, посвященных предрасположенности развития альвеолита у пациенток, регулярно принимающих пероральные контрацептивы, отмечается связь между уровнем эстрогена, активирующего фибринолиз и приводящего к разрушению кровяного сгустка в лунке зуба [7, 31].

Также, согласно результатам ряда исследования, менструальный цикл может быть фактором повышенного риска развития альвеолита. В среднем, частота возникновения альвеолита у женщин в период менструального цикла составляла 23%. Чтобы избежать этого, большинство авторов рекомендуют не проводить плановые оперативные вмешательства в этот период [6, 10].

Значительный интерес представляют наблюдения взаимосвязи развития альвеолита у лиц с системными заболеваниями. В ряде публикаций отмечена повышенная частота воспалительных осложнений у иммуно-скомпрометированных пациентов и диабетиков [20, 28].

Для профилактики альвеолитов у пациентов с диабетическим статусом в последнее время находят применение методика A-PRF-терапии. Кроме профилактики послеоперационных кровотечений из лунки

удаленного зуба, использование A-PRF-терапии позволяет добиться сокращения времени регенерации лунки зуба, значительного уменьшения или отсутствия послеоперационной боли, отека тканей лунки и воспалительных осложнений [6, 9].

Особой предрасположенностью к развитию альвеолита, по ряду наблюдений, подвержены пациенты после атипичского удаления третьих нижних моляров. Здесь большое значение имеет повышенная травматизация костной ткани нижней челюсти. Некоторые авторы связывают это с повышенной плотностью костной ткани в этих участках. По их мнению, тут возникает патологическая сосудистая реакция на повреждение и снижается способность продуцировать грануляционную ткань для нормального течения регенерации кости [12].

Влияние вредных привычек, в частности, курение, по многим наблюдениям, является фактором риска возникновения альвеолита. Исследования показали, что после хирургического удаления моляров нижней челюсти у тех пациентов, кто курил половину пачки или более сигарет в день, альвеолит диагностировали в четыре-пять раз чаще по сравнению с некурящими пациентами. Распространенность альвеолита была значительно выше у курильщиков (9 %), чем у некурящих пациентов (3%) [21].

Методы профилактики и лечения альвеолитов, предложенных в большинстве научных публикаций, отличаются большим разнообразием предложенных средств. Тем не менее, рецепт эффективной универсальной медикаментозной схемы профилактики и лечения альвеолитов пока не найден.

Антибиотики относятся к наиболее популярным медикаментозным средствам для предотвращения и лечения альвеолитов. Такие препараты, как пенициллин, клиндамицин, эритромицин, метранидазол эффективны в предотвращении альвеолита [30]. Локальные аппликации тетрациклина в лунку показывают перспективные результаты в снижении риска альвеолита в сравнении с другими антибиотиками. Однако существует риск развития резистентности и гиперчувствительности при рутинном пре- и послеоперационном назначении антибиотиков [13, 15].

Доказано, что полоскание рта 0,12% раствором хлоргексидина до и после операции удаления зуба и использование геля на основе 0,2% хлоргексидина снижали риск возникновения альвеолита [3, 4].

Для лечения альвеолита успешно использовали эвгенол-содержащие повязки. Доказано, что применение препарата «Alvogyl», который содержит эвгенол, бутамбен и йодоформ, при местном использовании снижают риск развития альвеолита до 8 % случаев, по сравнению с 26 % в лунках без повязки [17].

Определенный интерес могут представлять сообщения об эффективном местном использовании

антифибринолитиков и транексамовой кислоты, а также биоразлагаемых полимеров, топических гемостатиков и целлюлозной губки [19, 27].

Топическое применение стероидов (гидрокортизоновой и окситетрациклиновой смеси) показало снижение частоты альвеолита после удаления ретинированных зубов мудрости нижней челюсти [3].

Доказано значительное уменьшение риска альвеолита при заполнении лунки PRP или комбинации PRF с желатиновой губкой [24, 26].

Применение гранул декстраномера свидетельствует о более быстром анальгетическом эффекте и снижении риска альвеолита [18].

ВЫВОДЫ

1. Меры профилактики послеоперационных осложнений после удаления зуба: а) уменьшение травматичности операции за счет тщательного соблюдения правил удаления, щадящего отношения к мягким и твердым тканям и совершенствования оперативной техники удаления зуба; б) соблюдение правил асептики для предупреждения инфицирования раны путем сохранения кровяного сгустка в альвеоле; в) правильные назначения в послеоперационном периоде.
2. Простым и надежным средством профилактики альвеолита остается регулярная и полноценная гигиена полости рта.
3. Оптимизация процессов заживления благодаря заполнению лунки разными лекарственными веществами – анестезином, йодоформом, биологическими веществами: кальций-полифосфатным композитом, тромбоцитарными факторами роста (PRF-терапия), гемостатической антибактериально-анестезирующей губкой «альвостаз», диваскан с памбой и т.д. – не могут заменить естественное заживление лунки под кровяным сгустком.
4. Профилактика воспалительных осложнений после операции удаления зуба базируется на обеспечении образования и сохранения в луночковой ране устойчивого сгустка крови, который должен обеспечить нормальную регенерацию поврежденных тканей.

REFERENCES

1. Alexander RE. Dental extraction wound management: a case against medicating postextraction sockets. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2000; 58(5): 538-551. DOI: 10.1016/s0278-2391(00)90017-x
View at: Publisher Site: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(00\)90017-X/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(00)90017-X/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10800910/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/10800910>
2. Bezrukov V.M., Grigor'yants L.A., Rabukhina Ye.A.,

Badalyan V.A. *Outpatient surgical dentistry. Modern methods* (2nd ed.) Medical Information Agency, 2005. 112 p. [in Russian].

View at: Publisher Site: http://kingmed.info/knigi/Stomatologiya/Hirurgicheskaya_stomatologiya/book_3042/Ambulatoreynaya_hirurgicheskaya_stomatologiya_Sovremennye_metodi_2-e_izdanie-Bezrukov_VM_Grigoryants_LA_Rabuhina_NA_Badalyan_VA-2004-pdf

3. Blum IR. Contemporary views on dry socket (alveolar osteitis): a clinical appraisal of standardization, etiopathogenesis and management. *Int. J. Oral Maxillofac Surg*. 2002 Jun; 31(3):309-17. DOI: 10.1054/ijom.2002.0263
View at: Publisher Site: [https://www.ijoms.com/article/S0901-5027\(02\)90263-8/pdf](https://www.ijoms.com/article/S0901-5027(02)90263-8/pdf)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12190139/>
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0901502702902638>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/12190139>
4. Bowe DC, Rogers S, Stassen LF. The management of dry socket/alveolar osteitis. *J. Ir. Dent. Assoc.*; 2011 Dec-2012 Jan; 57(6): 305-10.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22338284/>
Semantic Scholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-management-of-dry-socket%2Falveolar-osteitis.-Bowe-Rogers/5604cab75e9eea9f29d25948ad0e1b0b02c37c88>
Prime PubMed: https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/22338284/The_management_of_dry_socket/alveolar_osteitis_
5. Cardoso C.L., Rodrigues M., Ferreira O., Garlet G., Perri de Carvalho P.S. Clinical concepts of dry socket. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010; 68(8):1922-32. DOI: 10.1016/j.joms.2009.09.085
View at: Publisher Site: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(09\)01827-8/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(09)01827-8/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20537783/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/20537783>
6. Durmuşlar M.C, Ballı U, Dede F.Ö, Doğan Ş.B, Mısırlı A.F., Barış E., Yılmaz Z., Çelik H.H., Vatansever A. Evaluation of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in diabetic rabbits. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2016 Feb;44(2): 126-33. DOI: 10.1016/j.jcms.2015.11.009
View at: Publisher Site: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1010518215003923?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26732635/>
Springer: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13770-015-0031-5>
7. Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/26732635>
Cohen ME, Simecek JW. Effects of gender-related factors on the incidence of localized alveolar osteitis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral*

- Radiol. Endod. 1995 Apr; 79(4): 416-22. doi: 10.1016/s1079-2104(05)80120-9
View at: Publisher Site: [https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104\(05\)80120-9/pdf](https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104(05)80120-9/pdf)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7614198/>
URL: <https://apps.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/a297601.pdf>
8. Cohen M.M. The new bone biology: pathologic, molecular, and clinical correlates. *Am. J. Med. Genet.* 2006 Dec 1; 140(23): 2646-706. DOI: 10.1002/ajmg.a.31368
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ajmg.a.31368>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17103447/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/17103447>
 9. Eshghpour M, Dastmalchi P, Nekooei AH, Nejat A. Effect of platelet-rich fibrin on frequency of alveolar osteitis following mandibular third molar surgery: a double-blinded randomized clinical trial. *J. Oral Maxillofac Surg.* 2014 Aug; 72(8): 1463-7. DOI: 10.1016/j.joms.2014.03.029.
View at: Publisher Site: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(14\)00342-5/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(14)00342-5/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25037182/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/25037182>
 10. Eshghpour M, Rezaei NM, Nejat A. Effect of menstrual cycle on frequency of alveolar osteitis in women undergoing surgical removal of mandibular third molar: a single-blind randomized clinical trial. *J. Oral Maxillofac Surg.* 2013 Sep; 71(9): 1484-9. DOI: 10.1016/j.joms.2013.05.004
View at: Publisher Site: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(13\)00490-4/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(13)00490-4/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23866782/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/23866782>
 11. Franz-Odenaal T.A. Induction and patterning of intramembranous bone. *Front. Biosci. (Landmark Ed).* 2011 Jun 1; 16:2734-46. DOI: 10.2741/3882
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21622205/>
Semantic Scholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/Induction-and-patterning-of-intramembranous-bone.-Franz-Odenaal/508bb865d8a036a8d1c-2cf178b1138f42fc4f0ce>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/21622205>
 12. Haraji A, Motamedi MH, Rezvani F. Can flap design influence the incidence of alveolar osteitis following removal of impacted mandibular third molars? *Gen Dent.* 2010 Sep-Oct; 58(5):e187-9.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20829150/>
Semantic Scholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/Can-flap-design-influence-the-incidence-of-alveolar-Haraji-Motamedi/a9a26dd2176fae28ab9595375469034c7ec000dd>
 13. Hedstrom L, Sjogren P. Effect estimates and methodological quality of randomized controlled trials about prevention of alveolar osteitis following tooth extraction: a systematic review. *Oral. Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2007 Jan; 103(1): 8-15. DOI: 10.1016/j.tripleo.2006.01.007
View at: Publisher Site: [https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104\(06\)00005-9/fulltext](https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104(06)00005-9/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17178488/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/17178488>
 14. Houston JP, McCollum J, Pietz D, Schneck D. Alveolar osteitis: a review of its etiology, prevention, and treatment modalities. *Gen. Dent.* 2002 Sep-Oct; 50(5): 457-63. quiz 464-5
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12448899/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/12448899>
 15. Kolokythas A, Olech E, Miloro M. Alveolar osteitis: a comprehensive review of concepts and controversies. *Int. J. Dent.* 2010; 2010: Article ID 249073. DOI: 10.1155/2010/249073
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/ijd/2010/249073/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20652078/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2905714/>
 16. Kulakov A.A. [Surgical dentistry and maxillofacial surgery. National leadership] Moscow: GEOTAR-Media, 2021. 408 p. [in Russian].
 17. Loomer C.R. Alveolar osteitis prevention by immediate placement of medicated packing. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2000 Sep; 90(3): 282-4. DOI: 10.1067/moe.2000.108919
View at: Publisher Site: [https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104\(00\)94121-0/fulltext](https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104(00)94121-0/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10982947/>
 18. Majati S, Kulkarni D, Kotrashetti SM, Balihallimath L., Rao S. Study of dextranomer granules in treatment of alveolar osteitis. *JIOH.* 2010 Oct; 2(3): 99-103.
View at: Research Gate: https://www.researchgate.net/publication/260598724_Study_of_Dextranomer_granules_in_treatment_of_Alveolar_Osteitis_A_prospective_study_of_50_cases
 19. Mamoun J. Dry Socket Etiology, Diagnosis, and Clinical Treatment Techniques. *J. Korean Assoc. Oral Maxillofac Surg.* 2018 Apr; 44(2): 52-8. DOI: 10.5125/jkaoms.2018.44.2.52
View at: Publisher Site: <https://synapse.koreamed.org/articles/1092050>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29732309/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5932271/>
 20. Mytchenok M.P. [Incidence of alveolitis of the jaws in patients with diabetes]. Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Dental Academy. 2006; 6:117-8 [in Ukrainian].
 21. Nusair YM, Abu Younis MH. Prevalence, clinical picture and risk factors of dry socket in a Jordanian Den-

- tal Teaching Center. *Journal of Contemporary Dental Practice*. 2007 Mar 1; 8(3). P. 53-63.
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17351682/>
Research Gate: https://www.researchgate.net/publication/6454749_Prevalence_Clinical_Picture_and_Risk_Factors_of_Dry_Socket_in_a_Jordanian_Dental_Teaching_Center
22. Oginni FO, Fatusi OA, Alagbe AO. A clinical evaluation of dry socket in a Nigerian teaching hospital. *J. Oral Maxillofac Surg*. 2003 Aug; 61(8): 871-6. DOI: 10.1016/s0278-2391(03)00248-9
View at: Publisher Site: [https://www.joms.org/article/S0278-2391\(03\)00248-9/fulltext](https://www.joms.org/article/S0278-2391(03)00248-9/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12905436/>
 23. Olech E., Miloro M. Alveolar osteitis: a comprehensive review of concepts and controversies. *International Journal of Dentistry*. 2010; 2010: 249073. DOI: 10.1155/2010/249073
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/ijod/2010/249073/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20652078/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2905714/>
 24. Pal US, Singh BP, Verma V. Comparative evaluation of zinc oxide eugenol versus gelatin sponge soaked in plasma rich in growth factor in the treatment of dry socket. An initial study. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2013; 4(1): 37-41. DOI: 10.4103/0976-237X.111592
View at: Publisher Site: <https://www.contempclindent.org/article.asp?issn=0976-237X;year=2013;volume=4;issue=1;spage=37;epage=41;aulast=Pal>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23853450/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3703692/>
 25. Robustova T.G. [Surgical dentistry]. Textbook 3rd edition Moscow: Medicine, 2003. 504 p. [in Russian].
View at: URL: http://dental-ss.org.ua/load/kniga_stomatologia/khirurgicheskaja/robustova_3_e_izd_2003/10-1-0-100
 26. Rutkowski JL, Fennell JW, Kern JC, Madison DE, Johnson DA. Inhibition of alveolar osteitis in mandibular tooth extraction sites using platelet-rich plasma. *Journal of Oral Implantology*. 2007;33(3):116-21. DOI: 10.1563/1548-1336(2007)33[116:IOAOIM]2.0.CO;2.
View at: Publisher Site: <https://meridian.allenpress.com/joi/article/33/3/116/2105/Inhibition-of-Alveolar-Osteitis-in-Mandibular>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17674676/>
 - Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/17674676>
 27. Tolstunov L. Influence of immediate post-extraction socket irrigation on development of alveolar osteitis after mandibular third molar removal: a prospective split-mouth study, preliminary report. *Br. Dent. J.* 2012 Dec; 213(12): 597-601. DOI: 10.1038/sj.bdj.2012.1134
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/sj.bdj.2012.1134>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23257808/>
 28. Torres-Lagares D, Serrera-Figallo MA, Romero-Ruiz MM, Infante-Cossio P, García-Calderón M, Gutiérrez-Pérez JL. Update on dry socket: a review of the literature. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*. 2005 Jan-Feb; 10(1): 77-85. [in English, Spanish]
View at: PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15627911/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/15627911>
 29. Tsimbalistov A.B., Shtorina G.B. [Analysis of bone density at the stages of treatment of patients with generalized periodontitis. Materials all-Russian scientific practical. conf. Moscow, 2003: 250-2 [in Russian].
 30. Wahl M.J., Wahl J.A., Schmitt M.M. Dental Extractions, Antibiotics and Curettage – First, Do no Harm. *Global Journal of Medical J Dentistry and Otolaryngology*. 2014;14(1): Version 1.0, 2014.
View at: Publisher Site: <https://globaljournals.org/item/2816-dental-extractions-antibiotics-and-curettage-first-do-no-harm>
URL: <https://www.wahlfamilydentistry.com/assets/docs/extractions-antibiotics.pdf>
URL: <https://medicalresearchjournal.org/index.php/GJMR/article/view/679/0>
 31. Xu JL, Sun L, Liu C, Sun ZH, Min X, Xia R. Effect of oral contraceptive use on the incidence of dry socket in females following impacted mandibular third molar extraction: a meta-analysis. *Int. J. Oral Maxillofac Surg*. 2015 Sep; 44(9): 1160-5. DOI: 10.1016/j.ijom.2015.05.017
View at: Publisher Site: [https://www.ijoms.com/article/S0901-5027\(15\)00211-8/fulltext](https://www.ijoms.com/article/S0901-5027(15)00211-8/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26116066/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/26116066>

Article history

Received: 06.03.2021

Revision requested: 12.03.2021

Revision received: 16.03.2021

Accepted: 29.03.2021

Published: 31.03.2021

ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ВИВЧЕННЯ ЗАПАЛЬНИХ УСКЛАДНЕНЬ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ ВИДАЛЕННЯ ЗУБА. Огляд

Маланчук В.О., Топчий Д.В., Джавадіасл А.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ, Україна

tpch03@gmail.com

Актуальність. Запалення лунки видаленого зуба є одним з найбільш частих (від 3 до 40%) ускладнень операції видалення зуба. Відсутність єдиної думки про причини виникнення альвеоліту і неможливість встановити ключову роль одного з факторів патогенезу – все це ускладнює проведення ефективних профілактичних заходів попередження захворювання.

Мета: використати дані літератури для узагальнення і систематизації різноманітних поглядів на етіологію, патогенез, методи профілактики і лікування альвеолітів.

Матеріали та методи. Проаналізовано доступні літературні наукові джерела, де розглянуті сучасні погляди на проблеми лікування альвеолітів. Узагальнені і систематизовані сучасні підходи до розуміння етіології, патогенезу, профілактики і методів лікування альвеолітів.

Результати. Більшість авторів, аналізуючи основні причини та супутні фактори виникнення альвеоліту, пропонують для його профілактики: зменшити травматичність операції, дотримуватися асептики і правильних призначень в післяопераційному періоді, а також оптимізувати процеси загоєння лунки, використовуючи місцево різноманітні лікарські препарати.

Висновок. Профілактика запальних ускладнень після операції видалення зуба в основному базується на забезпеченні утворення в лунці зуба стійкого згустка крові, який повинен забезпечити нормальну регенерацію пошкоджених тканин.

Ключові слова: альвеоліт, видалення зуба, лунка зуба, згусток крові, остеорегенерація.

PATOGENETIC ASPECT OF STUDYING INFLAMMATORY COMPLICATIONS AFTER A TOOTH EXTRACTION OPERATION. Review

Malanchuk V.O., Topchii D.V., Javadiasl A.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

tpch03@gmail.com

Relevance. Inflammation of the socket of the removed tooth is one of the most frequent complications (from 3 to 40%) of the tooth extraction operation. The lack of consensus on the causes of alveolitis and the lack of an established key role of one of the many diverse factors in the pathogenesis of its development make it difficult to carry out effective preventive measures to prevent its development.

Objective: to use the literature data to summarize and systematize a variety of views on the etiology, pathogenesis, methods of prevention and treatment of alveolites.

Materials and methods. The available literary scientific sources are analyzed where modern views on the problems of treating alveolitis are examined. Modern approaches to understanding the etiology, pathogenesis, prevention and treatment of alveolitis are generalized and systematized.

Results. Most authors, analyzing the main causes and accompanying factors of alveolitis, suggest for its prevention: reduce the traumatic nature of the operation, observe aseptic and correct appointments in the postoperative period, and optimize the healing processes of the well using locally diverse medications.

Conclusion. The prevention of inflammatory complications after the tooth extraction operation are mainly based on the desire to ensure the formation in the tooth socket of a stable blood clot, which should ensure normal regeneration of damaged tissues.

Key words: alveolitis, tooth extraction, tooth socket, blood clot, osteoregeneration.

