

Medical Science of Ukraine

Медицина наука України

2023. Т. 19, № 3

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

<https://doi.org/10.32345/2664-4738.3.2023>

Періодичність видання – 1 раз на квартал

ЗМІСТ КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА		CONTENT CLINICAL MEDICINE
Белка К.Ю., Кучин Ю.Л., Фоміна Г.А. Ефективність симуляційного навчання лікарів-інтернів для набуття компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ)	3	Bielka K.Y., Kuchyn Iu.L., Fomina H.A. Effectiveness of simulation training of medical interns for the acquisition of competencies in the management of perioperative emergencies (PNS) and critical incidents (CI)
Лисайчук Ю.С., Павличенко Л.М., Рушай А.К. Непряма реваскуляризація дистальних відділів нижньої кінцівки при термінальних стадіях оклюзійно-стенотичних уражень її артерій	11	Lysaychuk Y.S., Pavlichenko L.M., Rushay A.K. Indirect revascularization of the distal parts of the lower limb in terminal stage occlusive-stenotic lesions of its arteries
Горошко В.Р. Особливості лікування болю у пацієнтів з вогнепальними пораненнями в лікарсько-сестринських бригадах	17	Horoshko V.R. Peculiarities of pain treatment in patients with gunshot wounds in medical and nursing teams
Максимець Т.А., СклярOVA О.Є. Взаємозв'язок між інсулінорезистентністю, адипокінами, ліпідами та низько-рівневим запаленням у пацієнтів з серцево-судинними захворюваннями, які лікувалися статинами	23	Maksymets T.A., Sklyarova H.E. Relationship between insulin resistance, adipokines, lipids and low-grade inflammation in patients by cardiovascular disease treated with statins
Нетребін Л.І. Вміст 25-гідроксикальціферолу (25(OH)D) в плазмі крові у хворих на цукровий діабет 2 типу на різних стадіях діабетичної ретинопатії	31	Netrebin L.I. The content of 25-hydroxycalciferol (25(OH)D) in the blood plasma of patients with type 2 diabetes at different stages of diabetic retinopathy
Риков С.О., Прокопенко Ю. В. Вміст ендотеліну-1 в плазмі крові пацієнтів з діабетичною ретинопатією на тлі цукрового діабету 2 типу в залежності від поліморфних варіантів генів MTHFR, MTRR і MTR	37	Rykov S.O., Prokopenko Yu.V. The content of endothelin-1 in the blood plasma of patients with diabetic retinopathy on the background of type 2 diabetes depending on the polymorphic variants of the MTHFR, MTRR, and MTR genes
Кароль І.В., Біляєва О.О. Фактори ризику тяжкого перитоніту у хірургічних пацієнтів	47	Karol I.V., Bilyaeva O.O. Risk factors for severe peritonitis in surgical patients

Чугаєв Д. І. Роль Е-селектину в розвитку макулярного набряку при діабетичній ретинопатії за цукрового діабету 2 типу	55	Chugaev D. I. The role of E-selectin in the development of macular edema in diabetic retinopathy in type 2 diabetes
Іванюта Є.П. Поліморфізм rs2149356 гена TLR4 при цукровому діабеті 2 типу – можливий зв'язок з діабетичним макулярним набряком	65	Ivanyuta E. P. TLR4 gene rs2149356 polymorphism in type 2 diabetes – possible association with diabetic macular edema
Лопаткіна О.П., Тихолаз В.О., Школьніков В.С. Морфометричні параметри моста плода людини 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку	74	Lopatkina O.P., Tykholaz V.O., Shkolnikov V.S. Morphometric parameters of the human fetal bridge at 17–18 weeks of intrauterine development
Москалюк В.Д., Бойко Ю.І., Колотило Т.Р., Чернецька Н.В. Вплив ожиріння на тяжкість перебігу коронавірусної хвороби (COVID-19) (клінічний випадок)	81	Moskaliuk V.D., Boiko Yu.I., Kolotylo T.R., Chernetska N.V. The influence of obesity on the severity of the course coronavirus disease (COVID-19) (clinical case)
ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА		THEORETICAL MEDICINE
Шевчук М.М., Волос Л.І. Морфологічні особливості печінки і стан мікроциркуляторного русла після експериментального застосування олії канабідіолу	86	Shevchuk M.M., Volos L.I. Morphological features of the liver and the state of the microcirculatory channel after experimental use of cannabidiol oil
ФАРМАЦІЯ, ПРОМИСЛОВА ФАРМАЦІЯ		PHARMACY, INDUSTRIAL PHARMACY
Темірова О.А., Городецька Н.Я., Хайтович М.В., Потаскалова В.С. Фармацевтична опіка як важлива складова раціонального використання седативних лікарських засобів	95	Temirova O. A., Horodetska N. Y., Khaitovych M. V., Potaskalova V. S. Pharmaceutical care as an important component of the rational use of sedative drugs
ГРОМАДСЬКЕ ЗДОРОВ'Я		PUBLIC HEALTH
Бардов Г.П., Вавріневич О.П. Проблема прогнозування виникнення гострих токсичних ефектів, в тому числі шкірних захворювань, у працівників агропромислового сектору перед застосуванням інсектицидів	102	Bardov H.P., Vavrinevych O.P. The problem of predicting the occurrence of acute toxic effects, including skin diseases, among workers in the agro-industrial sector before the use of insecticides
ОГЛЯДИ		REVIEWS
Хайтович М.В. Ефлюксні помпи як фармакологічна мішень для протидії антибіотикорезистентності	115	Khaitovych M.V. Efflux pumps as a pharmacological target to combat antibiotic resistance
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ		PRACTICAL RECOMMENDATIONS
Бабкіна О.П. Фіксації та документування тілесних ушкоджень у пацієнтів в закладах охорони здоров'я в умовах збройного конфлікту	125	Babkina O.P. Fixation and documentation of bodily injuries in patients in health care institutions in conditions of armed conflict

ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМУЛЯЦІЙНОГО НАВЧАННЯ ЛІКАРІВ-ІНТЕРНІВ ДЛЯ НАБУТТЯ КОМПЕТЕНЦІЙ МЕНЕДЖМЕНТУ ПЕРИОПЕРАЦІЙНИХ НЕВІДКЛАДНИХ СТАНІВ (ПНС) ТА КРИТИЧНИХ ІНЦИДЕНТІВ (КІ)

¹Белка К.Ю. <https://orcid.org/0000-0003-1185-6835>

¹Кучин Ю.Л. <https://orcid.org/0000-0002-9667-1911>

²Фоміна Г.А.

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

² Лікарня швидкої медичної допомоги, Київ, Україна

ekateryna.belka@gmail.com

Актуальність. Метод симуляції активно використовується у сфері охорони здоров'я для заміни або підкріплення реального досвіду роботи з пацієнтом, запобігаючи виникненню ризиків для життя і здоров'я пацієнтів.

Ціль: визначення ефективності симуляційного навчання лікарів-інтернів щодо набуття компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ) під час анестезії у порівнянні з традиційними технологіями навчання – лекцією.

Матеріали та методи. Проспективне рандомізоване контрольоване дослідження було проведено на кафедрі хірургії, анестезіології та ІТ ПДО НМУ імені О.О. Богомольця у період з травня 2022 по травень 2023 року. Лікарі-інтерни були рандомізовані до 2 груп: контрольної (К) та групи дослідження (Д) у співвідношенні 1:1. Після надання усної інформованої згоди, лікарі-інтерни 2 року навчання 2022 та 2023 років випуску за спеціальністю «Анестезіологія та інтенсивна терапія» пройшли оцінювання набутих компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ): склали MCQ пре-тест; провели самооцінку власних компетенцій; пройшли 1 симуляційний сценарій з оцінюванням за шкалою СЕХ під час сценарію. Інтерни контрольної групи прослухали 2-годинну лекцію на тему "Менеджмент ПНС та КІ під час анестезії". Інтерни групи дослідження пройшли навчання на 2-денному симуляційному тренінгу «Менеджмент ПНС та КІ», під час якого відпрацювали близько 10 сценаріїв зі структурованим дебрифінгом та аналізом після кожного сценарію. Через 3 місяці після симуляційного тренінгу лікарі-інтерни групи дослідження та контрольної груп пройшли пост-тест за алгоритмами розпізнавання / лікування ПНС та КІ, повторну самооцінку компетенцій та фінальний симуляційний сценарій з оцінюванням за шкалою СЕХ під час сценарію.

Результати. У дослідження було включено 60 лікарів інтернів, які дали згоду на участь. Відповідно 30 інтернів були включені у 2022 році (по 15 в гр.К та гр.Д) та 30 у 2023 році (по 15 в гр.К та гр.Д). Перед проведенням навчання групи лікарів-інтернів (К та Д) не відрізнялись за самооцінкою компетенцій щодо менеджменту ПНС та критичних інцидентів КІ. Також групи К та Д не відрізнялись за компетенціями щодо менеджменту ПНС та КІ під час проведення попереднього тестування та початкового симуляційного сценарію. Після проходження 2-денного симуляційного тренінгу, група Д мала достовірно кращі результати складання ПОСТ-тесту ($p < 0.00001$), і достовірно меншу кількість критичних помилок під час проходження фінального симуляційного сценарію (0.19 [0.05-0.78], $p = 0.03$) у порівнянні з групою К, яка прослухала 2-годинну лекцію. Проходження симуляційного тренінгу достовірно більше покращувало передпроцедурне планування ($p = 0.012$), клінічні рішення ($p = 0.001$), клінічне мислення ($p = 0.03$), управління ресурсами та організацію роботи ($p = 0.00001$), професіоналізм ($p = 0.028$) та роботу в екстремній ситуації ($p = 0.00001$) у порівнянні з традиційним навчанням – 2-годинною лекцією.

Висновок. Симуляційне навчання лікарів-інтернів за спеціальністю "Анестезіологія та інтенсивна терапія" є достовірно більш ефективним для набуття компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ) у порівнянні з традиційним навчанням – лекцією.

Ключові слова: симуляція, навчання, післядипломна освіта, анестезіологія.

Актуальність. Симуляція — це метод, який використовується під час навчання навчання у сфері охорони здоров'я, для того аби замінити або підкріпити реальний досвід роботи з пацієнтом, використовуючи різні сценарії, призначені для відтворення реальних клінічних випадків. Симуляційні сценарії розроблені аби відтворювати роботу в екстрених ситуаціях, навички комунікації та командної роботи, одночасно з базовими навичками виконання процедур, моніторингу пацієнта, ведення документації, прийняття рішень тощо. Перевагами симуляційного навчання є можливість відпрацювати навички без ризику для пацієнта чи спеціаліста, а також провести детальний самоаналіз виконаної роботи та почути зворотній зв'язок колег по навчанню та тренерів.

Для підвищення якості та ефективності надання допомоги під час виникнення невідкладних станів та швидкої налагодженої роботи у постійному потоку пацієнтів у відділенні анестезіології використовуються різні методи. Серед цих методів зростає тенденція до використання моделювання, що сприяє прийняттю ефективних рішень у критичних ситуаціях та покращенню надання анестезіологічної допомоги. Доведено, що моделювання ситуацій з виникненням невідкладних станів є ефективними для відтворення алгоритмів, які необхідно виконувати в момент виникнення ПНС або КІ і покращення взаємодії між членами анестезіологічної бригади [1]. Сценарії, що використовуються під час навчання є рівноцінною заміною реальній ситуації, що дозволяє використовувати менше часу на оволодіння знаннями і є більш прийнятними в контексті можливості скоєння помилок, в порівнянні з навчанням на клінічних базах з реальними пацієнтами.

У дослідженні Вірен Н. Найк й Сьюзен Е. Браєн [2], які досліджували ефективність симуляції для навчання інтернів, описується, що симуляція – це засіб підвищення безпеки пацієнтів. Симуляція як засіб навчання складається з трьох компонентів: початковий інструктаж, безпосередньо моделювання ситуації та дебрифінг. Початковий інструктаж стосується пояснення та вказівок перед проведенням мо-

делювання. Симуляційний досвід є основною частиною процесу освіти. Учасники проходять змодельовані клінічні сценарії; доступні різні клінічні сценарії, зосереджені на здобутті навичок або нетехнічних аспектах. Дебрифінг є ключовим компонентом навчання, заснованого на моделюванні, адже після симуляції надає учням важливу можливість поміркувати над ключовими моментами під час проведення симуляції та покращити свої клінічні навички [3].

Останнім часом багато анестезіологів взяли участь у освітній діяльності, і все більше звітів вказують на ефективність моделювання в анестезіології [4]. Однак важливо відмітити, що в Україні такі дослідження ще не проводились до цього часу.

Ціль: визначення ефективності симуляційного навчання лікарів-інтернів щодо набуття компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ) під час анестезії у порівнянні з традиційними технологіями навчання – лекцією.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проспективне рандомізоване контрольоване дослідження було проведено на кафедрі хірургії, анестезіології та ІТ ПДО НМУ імені О.О.Богомольця у період з травня 2022 по травень 2023 року. Після надання усної інформованої згоди, лікарі-інтерни 2 року навчання 2022 та 2023 років випуску за спеціальністю «Анестезіологія та інтенсивна терапія» пройшли оцінювання набутих компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ): склали MCQ пре-тест; провели самооцінку власних компетенцій; пройшли 1 симуляційний сценарій з оцінюванням за шкалою CEX під час сценарію (Мал.1). Всім учасникам дослідження було надано для самостійного вивчення переклад Стендфордських алгоритмів дій під час периопераційних невідкладних станів [5]. Надалі лікарі-інтерни були рандомізовані до 2 груп: контрольної та групи дослідження у співвідношенні 1:1. Рандомізація проводилась за допомогою онлайн-ресурсу random.com.

Інтерни контрольної групи прослухали 2-годинну лекцію на тему “Менеджмент ПНС та КІ під час анестезії”. Інтерни групи дослідження пройшли навчання на 2-денному симуляційному тренінгу «Менеджмент ПНС та КІ», під час якого відпрацювали близько 10 сценаріїв зі структурованим дебрифінгом та аналізом після кожного сценарію.

Аудиторія для проведення симуляційного навчання була обладнана манекеном Laerdal

SimMom Advanced Patient Simulator, монітором пацієнта, анестезіологічною станцією Leon, та апаратом ШВЛ. Стандартний сценарій моделював набряк язика, що відповідав 4 ступеню за класифікацією Кормака та Лехана та обструкцію глотки, а також жорсткість обох легень під час проведення сценарію «неможливо вентилувати». Стандартний набір інструментів та обладнання для забезпечення прохідності дихальних шляхів, вентиляції та

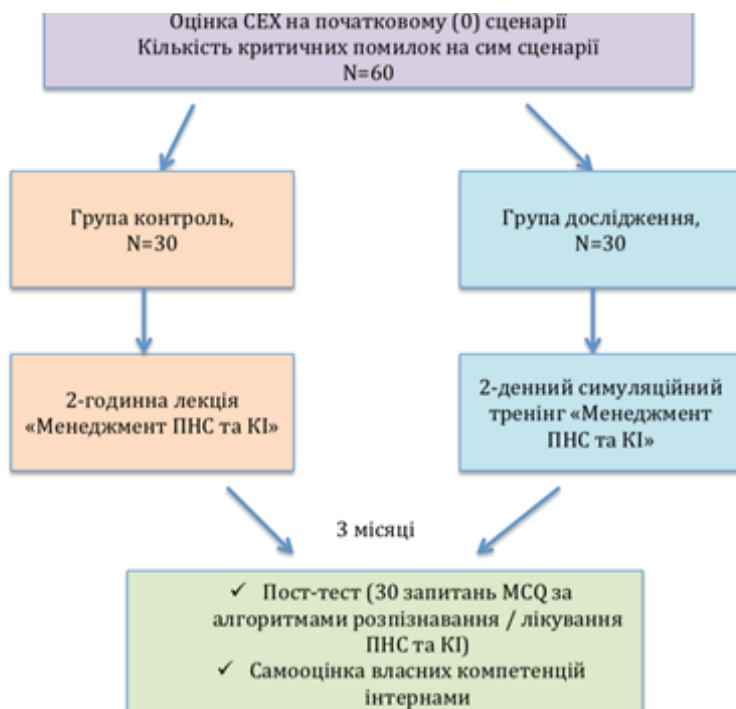


Рис.1. Розподіл лікарів-інтернів у групах та дизайн дослідження

інтубації трахеї включав лицьові маски різних розмірів, фарингеальні та назальні повітроводи, ларингоскопи, ларингеальні маски та ендотрахеальні трубки різних розмірів. Набір для важких дихальних шляхів був доступний на кожній станції та був оснащений додатковими клинками для ларингоскопа різних розмірів, відеоларингоскопом, ларингеальними масками різних розмірів (I-gel), інтродьюсерами для ендотрахеальних трубок (стилєтів і бужів), Airtraq, комплектом для крикотомії. Забезпечувався моніторинг: сатурація кисню(SpO_2), рівень CO_2 у потоці видихуваного повітря(EtCO_2), електрокардіомоніторинг та неінвазивне вимірювання артеріального тиску. Всі медикаменти для анестезії та невідклад-

ної допомоги були доступні на станції, а також за запитом був доступний відеоларингоскоп, дефібрилятор.

Симуляційні сценарії включали неочікувані важкі дихальні шляхи, неуспішну спінальну анестезію під час Кесаріва розтину, інтоксикацію місцевим анестетиком, злоякісну гіпертермію, апное під час процедурної седації, критичну тахіаритмію тощо.

Під час сценарію оцінку проводили за шкалою СЕХ, а також враховували кількість критичних помилок на 1 сценарій.

Через 3 місяці після симуляційного тренінгу лікарі-інтерни групи дослідження та контрольної груп пройшли пост-тест за алгоритмами розпізнавання / лікування ПНС та КІ,

повторну самооцінку компетенцій та симуляційний сценарій з оцінюванням за шкалою СЕХ під час сценарію.

Отримані результати були завантажені з онлайн Google-форм та платформи Kahoot у програму Excel та проаналізовані за допомогою описової статистики. Отримані вибірки даних визначені як нормальні (тест Колмогорова-Смирнова) та представлені як середнє значення (M) та стандартне відхилення ($\pm$ SD). Для оцінки статистичної різниці між рядами даних використовували T-test для незалежних вибірок та логістичну регресію (відношення шансів, odds ratio (OR). Відношення шансів представлено з 95% довірчим інтервалом.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У дослідження було включено 60 лікарів інтернів, які дали згоду на участь. Відповідно 30 інтернів були включені у 2022 році (по 15 в гр.К та гр.Д) та 30 у 2023 році (по 15 в гр.К та гр.Д). Групи статистично не відрізнялись за демографічними характеристиками: середній вік у групі К був 22.3 ± 0.6 та 22.5 ± 0.6 у групі Д; у групу К було включено 12 (40%) чоловіків та 28 (60%) жінок, та у групу Д – 14 (47%) та 16 (53%) відповідно ($p > 0.05$).

Перед проведенням навчання групи лікарів-інтернів (К та Д) не відрізнялись за самооцінкою компетенцій щодо менеджменту ПНС та критичних інцидентів КІ (Табл. 1). Також групи К та Д не відрізнялись за компетенціями щодо менеджменту ПНС та КІ під час проведення попереднього тестування та початкового симуляційного сценарію (Табл.2). Після

проходження 2 денного симуляційного тренінгу, група Д мала достовірно кращі результати складання ПОСТ-тесту ($p < 0.00001$), і достовірно меншу кількість критичних помилок під час проходження фінального симуляційного сценарію ($0.19 [0.05-0.78]$, $p = 0.03$) у порівнянні з групою К, яка прослухала 2-годинну лекцію.

При більш детальному аналізі результатів оцінювання інтернів викладачами під час початкового та фінального симуляційного сценаріїв, було виявлено, що група К та Д не відрізнялись за результатами проходження початкового сценарію, але мали достовірні відмінності при проходженні фінального (Табл. 3 та 4, Мал.2). Так, проходження симуляційного тренінгу достовірно більше покращувало передпроцедурне планування ($p = 0.012$), клінічні рішення ($p = 0.001$), клінічне мислення ($p = 0.03$), управління ресурсами та організацію роботи ($p = 0.00001$), професіоналізм ($p = 0.028$) та роботу в екстремній ситуації ($p = 0.00001$) у порівнянні з традиційним навчанням – 2-годинною лекцією.

Під час проведення дослідження було визначено ефективність симуляційного навчання лікарів-інтернів щодо набуття ними компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ) під час анестезії. Загалом було виділено три найважливіших групи позитивних результатів, кожна з яких має кілька підгруп, і визначено як переваги використання моделювання у відділеннях анестезіології та інтенсивної терапії. Вони включали удосконалення діагностики й прогнозування можливих КІ (швидке прогнозування утруднення маніпуляції, швид-

Таблиця 1

Самооцінка лікарів-інтернів власних компетенцій щодо менеджменту ПНС та КІ до проведення симуляційного тренінгу

Групи дослідження	Маю достатньо знань і навичок	Маю недостатньо навичок / знань	OR [95 CI], p
Вихідна Гр. Д, n (%) Гр. К, n (%)	20 (66.6) 19 (63.3)	10 (33.3) 11 (36.7)	--
Після сим. Тренінгу Гр. Д, n (%) Гр. К, n (%)	28 (93.3) 21 (70)	2 (6.7) 9 (30)	0.14 [0.028-0.72], $p = 0.02$ 0.74 [0.25-2.17], $p = 0.78$

Примітка: p - подвійний критерій Фішера.

Таблиця 2

Вихідний рівень компетенцій лікарів-інтернів щодо менеджменту ПНС та КІ

Показник	Група К	Група Д	p-value
Пре-тест %, М±SD	66±3.7	65±6	p=0.06
Пост-тест %, М±SD	69±3.4	80±4.5	
Критичні помилки, n (всього у групі)			
Сценарій ПРЕ	10/20	11/19	
Сценарій ПОСТ	7/23	3/27	
OR [95 CI], p	0.6 x[0.2-1.9], p=0.6	0.19x [0.05-0.78], p=0.03	

Таблиця 3

Результати оцінювання під час початкового симуляційного сценарію за шкалою CEX

Показник	Група К	Група Д	p-value
Передпроцедурне планування	6.2±1.94	6.13±2	0.45
Фізикальне обстеження	5.97±2.22	5.87±2.13	0.43
Клінічні рішення	5.97±1.95	5.83±1.86	0.42
Клінічне мислення	6.33±1.79	6.4±1.52	0.44
Управління ресурсами, організація роботи	5.3±2	5.36±1.77	0.45
Професіоналізм	6.23±2.24	6.26±2	0.48
Робота в екстремній ситуації	5.63±2.54	5.66±2.35	0.48

Примітка: дані представлені як М±SD; p-value визначено за допомогою Т-тесту.

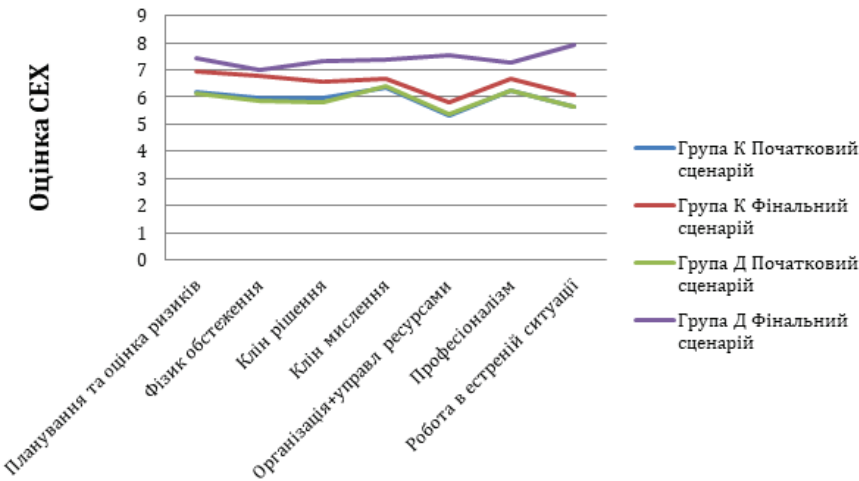


Рис. 2. Результати оцінювання за шкалою CEX під час початкового та фінального сценаріїв у групах дослідження (1 – потребує значного покращення, 10 – практично не потребує покращення)

ка діагностика ускладнення та попередження або усунення ситуації що виникла), удосконалення процесу лікування під час виникнення ПНС (покращення якості маніпуляцій, запобігання продовженню госпіталізації та затримки виписки пацієнтів, прискорення швидкості

Таблиця 4

Результати оцінювання під час фінального симуляційного сценарію за шкалою CEX

Показник	Група К	Група Д	p-value
Передпроцедурне планування та оцінка ризиків	6.93±0.87	7.46±0.94	0.012
Фізикальне обстеження	6.77±1.7	7 ±1.86	0.25
Клінічні рішення	6.56±1.5	7.3 ±0.96	0.001
Клінічне мислення	6.7±1.58	7.4 ±1.28	0.03
Управління ресурсами організація роботи	5.83 ±1.39	7.53 ±1.2	0.00001
Професіоналізм	6.67 ±1.27	7.26 ±1.11	0.028
Робота в екстремній ситуації	6.07 ±1.68	7.9 ±1.13	0.00001

Примітка: дані представлені як $M \pm SD$; p-value визначено за допомогою Т-тесту.

втручань та зменшення лікарських помилок під час їх виконання), підвищення рівня знань і навичок (підвищення швидкості прийняття рішень, набуття спеціалістом знань і навичок, просте, зручне і відносно недороге навчання, підвищення готовності лікаря до кризових ситуацій).

Таким чином, відповідний рівень володіння навичками, ефективність прийняття швидких рішень і відпрацьовані алгоритми реагування на кризову ситуацію виявились вкрай необхідні під час проведення анестезії й були засвоєні курсантами під час навчання в повному об'ємі.

В той самий час негативним боком даного методу є досить висока вартість симуляційних лабораторій. Один симулятор з системою моніторингу та іншим необхідним обладнанням може коштувати декілька сотень тисяч доларів США. Крім того, для імітації досвіду лікування реальних пацієнтів у необхідні синтетичні рідини для організму, заміна шкіри, бинти, шприци та інші розхідні матеріали. Здатність займатися без ризику слід порівнювати з доцільністю отримання відповідного досвіду саме під час навчання в аудиторії, а не в клінічних умовах. Проте варто зауважити, що симуляційне навчання має багато переваг, оскільки вона призводить до підвищення кваліфікації спеціалістів, які мають менший шанс зробити небезпечні для життя пацієнта помилки,

особливо в екстремних ситуаціях, які можуть створити додаткове фінансове навантаження на лікарню. [6]

Деякі з переваг симуляції:

- Відпрацювання «практичних» та інвазивних процедур
- Розбір рідкісних і складних клінічних ситуацій
- Можливість зробити помилку й побачити її результати
- Доступ до одного сценарію кількох студентів, що забезпечує схожі можливості для навчання всієї групи.
- Планування сценаріїв на основі потреб студентів, а не доступності пацієнтів
- Негайний зворотний зв'язок й можливість дискусії під час відпрацювання сценарію
- Використання справжнього медичного обладнання, доступного на клінічній базі
- Навчання в безпечному середовищі, без ризиків для курсантів й пацієнтів.

Використання методів медичного моделювання може допомогти перенести медичну підготовку зі старого методу «Побачити одне, зробити одне, навчити одному» на модель успіху «Побачити одне, практикувати багато, зробити одне» [7].

Доведено, що навчання на основі симуляції знижує ризики як для пацієнтів, так і для лікарів [8] Він також виявився ефективним як для

інтернів, так і для післядипломної освіти, а також для розвитку викладачів [9].

Такі симуляційні технології, як комп'ютерні системи, віртуальна реальність і тактильна система, імітація пацієнтів, імітація середовища та інтегровані симулятори також довели свою ефективність для оцінювання клінічних навичок [10]. Основною проблемою для медичного моделювання є той факт, що на сьогодні методологія цього методу не є доведеною. Більшість опублікованих робіт є описовими та обмеженими в узагальненні. Припущення, що таке навчання можна безпосередньо перенести в клінічний контекст, часто не перевірені [11]. Лише кілька досліджень показали прямий позитивний вплив на клінічні результати від використання моделювання для медичного навчання.

ВИСНОВОК

Симуляційне навчання лікарів-інтернів за спеціальністю "Анестезіологія та інтенсивна терапія" є достовірно більш ефективним для набуття компетенцій менеджменту периопераційних невідкладних станів (ПНС) та критичних інцидентів (КІ) у порівнянні з традиційним навчанням – лекцією.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Delshad V, Shirazi FB. The effectiveness of participation-based education on nurse performance in hospital Triage at disaster. *Med Sci.* 2019;23:404–9.
2. Naik VN, Brien SE. Review article: simulation: a means to address and improve patient safety. *Can J Anaesth.* 2013;60:192–200. DOI: 10.1007/s12630-012-9860-z
3. Murray DJ. Current trends in simulation training in anesthesia: a review. *Minerva Anesthesiol.* 2011;77:528–33
4. Blum RH, Boulet JR, Cooper JB, Muret-Wagstaff SL, Harvard Assessment of Anesthesia Resident Performance Research Group. Simulation-based assessment to identify critical gaps in safe anesthesia resident performance. *Anesthesiology.* 2014;120:129–4. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000055
5. Stanford Medicine. Emergency Manual. Available on: <https://emergencymanual.stanford.edu/other-languages/>
6. Maran NJ, Glavin RJ. Low-to high-fidelity simulation – a continuum of medical education? *Med Edu.* 2003;37:22–8. DOI: 10.1046/j.1365-2923.37.s1.9.x
7. Vozenilek J, Huff JS, Reznick M, Gordon JA. See one, do one, teach one: Advanced technology in medical education. *Acad Emerg Med.* 2004;11:1149–54. DOI: 10.1197/j.aem.2004.08.003
8. Gordon JA, Wilkerson WM, Shaffer DW, Armstrong EG. Practicing medicine without risk: Students' and educators' response to high-fidelity patient simulation. *Acad Med.* 2001;76:469–72. DOI: 10.1097/00001888-200105000-00019
9. Weller JM. Simulation in undergraduate medical education: Bridging the gap between theory and practice. *Med Edu.* 2004;38:32–8. DOI: 10.1111/j.1365-2923.2004.01739.x
10. Scalese RJ, Obeso VT, Issenberg SB. Simulation Technology for Skills Training and Competency Assessment in Medical Education. *J Gen Intern Med.* 2008;23:46–9. DOI: 10.1007/s11606-007-0283-4
11. Gordon JA, Oriol NE, Cooper JB. Bringing good teaching cases "to life": A simulation-based medical education service. *Acad Med.* 2004;79:23–7. DOI:10.1097/00001888-200401000-00007

Article history:

Received: 15.07.2023

Revision requested: 26.07.2023

Revision received: 03.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

SIMULATION TRAINING EFFICACY FOR COMPETENCE IN PERIOPERATIVE EMERGENCIES AND CRITICAL INCIDENTS MANAGEMENT ACQUISITION BY RESIDENTS-ANESTHESIOLOGIST

¹ Bielka K.Y., ¹ Kuchyn Iu.L., ² Fomina H.A.

¹ National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

² Emergency Medical Care Hospital, Kyiv, Ukraine

ekateryna.belka@gmail.com

Background. The simulation method is actively used in healthcare to replace or reinforce real experience with the patient, preventing risks to the life and health of patients.

Aim: to determine the effectiveness of simulation training of interns on the acquisition of competencies in the management of perioperative emergencies (MPN) and critical incidents (CI) during anesthesia in comparison with traditional teaching technologies - lecture.

Materials and methods. A prospective randomized controlled trial was conducted at the Department of Surgery, Anesthesiology and IT of PDO Bogomolets NMU in the period from May 2022 to May 2023. Interns were randomized to 2 groups: the control group (C) and the research (R) group in a ratio of 1:1. After providing verbal informed consent, interns of the 2nd year of study in 2022 and 2023 of graduation in the specialty «Anesthesiology and Intensive Care» were assessed for acquired management competencies perioperative emergencies (MPN) and critical incidents (CI): passed MCQ pretest; conducted a self-assessment of their own competencies; passed 1 simulation scenario with an assessment on the SEX scale during the scenario. Interns of the control group listened to a 2-hour lecture on «Management of MPN and CI during anesthesia». The interns of the study group were trained at a 2-day simulation training «Management of MPN and CI», during which they worked out about 10 scenarios with structured debriefing and analysis after each scenario. 3 months after the simulation training, the interns of the study group and the control groups passed a post-test on the algorithms for recognizing / treating MPN and CI, repeated self-assessment of competencies and the final simulation scenario with assessment on the CEX scale during the scenario.

Results: the study included 60 interns who agreed to participate. Accordingly, 30 interns were included in 2022 (15 each in gr.C and gr.R) and 30 in 2023 (15 each in gr.C and gr.R). Before the training, the groups of interns (C and R) did not differ in their self-assessment of competencies in PNS management and critical incidents of CI. Also, groups C and R did not differ in competencies in the management of MPN and CI during the preliminary testing and initial simulation scenario. After passing the 2-day simulation training, group D had significantly better results in passing the POST-test ($p < 0.00001$), and a significantly lower number of critical errors during the final simulation scenario (0.19 [0.05-0.78], $p = 0.03$) compared to group K, which listened to a 2-hour lecture. Simulation training significantly improved pre-procedure planning ($p = 0.012$), clinical decisions ($p = 0.001$), clinical thinking ($p = 0.03$), resource management and work organization ($p = 0.00001$), professionalism ($p = 0.028$) and emergency work ($p = 0.00001$) compared to traditional training – a 2-hour lecture.

Conclusion. Simulation training of interns in the specialty «Anesthesiology and Intensive Care» is significantly more effective for acquiring competencies in the management of perioperative emergencies (MPN) and critical incidents (CI) compared to traditional training - lecture.

Key words: simulation, training, postgraduate education, anesthesiology

НЕПРЯМА РЕВАСКУЛЯРИЗАЦІЯ ДИСТАЛЬНИХ ВІДДІЛІВ НИЖНЬОЇ КІНЦІВКИ ПРИ ТЕРМІНАЛЬНИХ СТАДІЯХ ОКЛЮЗІЙНО-СТЕНОТИЧНИХ УРАЖЕНЬ ЇЇ АРТЕРІЙ

Лисайчук Ю.С. <https://orcid.org/0000-0002-2231-193X>

Павличенко Л.М.

Рушай А.К. <https://orcid.org/0000-0002-9530-2321>

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

Anatoliyrushay@gmail.com

Актуальність. Термінальні стадії оклюзійно-стенотичних уражень артерій кінцівок, особливо при ураженнях її дистальних ділянок характеризуються критичною ішемією, розвитком гангренозних уражень частин кінцівки та незважаючи на застосування цілої низки медикаментозних та хірургічних методів існує загроза втрати кінцівки. Ефективним засобом при такій ситуації є видалення загнених тканин, надійне закриття дефекту з реваскуляризацією ішемізованих тканин.

Ціль: поліпшення результатів лікування хворих з дистальними оклюзуючими ураженнями артерій нижніх кінцівок методом комбінованої реваскуляризації з використанням вільних м'якотканних клаптів.

Матеріали і методи. Під нашим спостереженням знаходилося 45 хворих з термінальними стадіями оклюзійно-стенотичних уражень дистальних відділів нижніх кінцівок (гомілки і стопи). Попередні розміри трансплантату встановлювали після клінічної та інструментальної оцінки об'єму дефіциту тканин реципієнтної зони. Враховували і очікувані розміри трансформації тканин клаптя, яка виникала у віддалені строки після операції.

Результати. Ефективність методу досліджена при трансплантації 48 клаптів у 45 хворих з термінальною стадією уражень артерій кінцівок. Використаний спосіб забезпечує у 90,5% виживання кінцівки через 3 роки; 81,0% гарних результатів – ходьбу з тростиною.

Висновки. Використаний спосіб лікування кінцівки з термінальними стадіями оклюзійно-стенотичних уражень артерій шляхом непрямої реваскуляризації торако-дорзальним клаптем ефективний, забезпечує 90,5% виживання кінцівки через 3 роки. Попередні розміри трансплантату повинні встановлюватися після клінічної та інструментальної оцінки об'єму дефіциту тканин реципієнтної зони, враховувати розміри трансформації тканин. Комбінована реваскуляризація нижніх кінцівок значно покращує гемодинаміку ішемізованої кінцівки.

Ключові слова: Нижні кінцівки, критична ішемія, непряма реваскуляризація.

Актуальність. Хронічні облітеруючі захворювання артерій нижніх кінцівок становлять понад 2–3% від усієї чисельності населення; серед осіб старше 65 років досягає 35–50% [1, 2, 3].

Серед хворих на хронічні облітеруючі захворювання артерій нижніх кінцівок особливу групу складають хворі з дистальною формою ураження артеріального русла, у яких відзначається облітерація артерій гомілки. Особливо складними залишаються випадки, коли є дифузне ураження артерій гомілки та стопи. Проведення анастомозування не завжди забезпечує пряму реваскуляризацію, що обумовлено високою периферичною резистентністю.

Вкрай велика соціальна значущість проблеми, тому що більшість пацієнтів – це люди пра-

цездатного віку, кількість ампутацій залишається практично незмінно великою протягом тривалого часу. Мікросудинна трансплантація складного клаптя на базі найширшого м'яза спини відповідає переважній кількості клінічних ситуацій, а саме: може забезпечувати пластичну, опорну, реваскуляризуючу функцію, попереджаючи компресію тканин фасціальних просторах.

Різноманітність запропонованих методів лікування цих пацієнтів (артеріалізація венозного русла гомілки та стопи, реваскуляризуюча остеотрепанация, численні методики консервативної терапії) свідчить про різноманітність поглядів та відсутність єдиного стандарту в лікуванні дистальних оклюзій [3.4.5]. Непряма реваскуляризація за допомогою м'якотканин-

них клаптів з застосуванням мікрохірургічної техніки є сучасним перспективним методом лікування цієї тяжкої патології. Дослідженню цього питання і присвячена наша робота.

Ціль: Поліпшення результатів лікування хворих з дистальними оклюзуючими ураженнями артерій нижніх кінцівок шляхом впровадження в практику методу комбінованої реваскуляризації з використанням вільних м'якотканних клаптів.

Завдання дослідження – уточнення алгоритму визначення об'єму і складових оперативного лікування; сформульовано критерії вибору проведення втручання на основі отриманих даних анатомічних особливостей судин кінцівки та клаптя.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під нашим наглядом знаходилося 45 хворих з термінальними стадіями оклюзійно-стенотичних уражень дистальних відділів нижніх кінцівок (гомілки і стопи), серед яких переважали чоловіки (31 – 68,9%). Ефективність методу досліджена при трансплантації 48 клаптів у 45 хворих з термінальною стадією оклюзійно-стенотичних уражень артерій кінцівок.

Техніка виділення торако-дорзального клаптя передбачала урахування багатьох факторів. По перше визначали розміри і

форму істинного дефекту тканин стопи, які потребували заміщення. Попередні розміри трансплантату встановлювали після клінічної та інструментальної оцінки об'єму дефіциту тканин реципієнтної зони. Враховували і очікувані розміри трансформації тканин клаптя, яка виникало у віддалені строки після операції (рис. 1).

Важливим фактором була деталізація можливої зони судинного шва клаптя і відносно повноцінних (з задовільним кровотоком) судин гомілки. Питання це вирішувалося з застосуванням доплерівського дослідження, а при необхідності робили контрастне дослідження судин.

З урахуванням отриманих даних формували потрібну форму клаптя, відбиток якої накладали на зону його виділення. До уваги також брали можливі варіанти зміни його структури до потреб реципієнтної зони, можливого функціонального навантаження тканин у зоні дефекту, проявів супутньої патології. При цьому визначали необхідні розміри та форму як м'язового та шкірно-підшкірного фрагментів трансплантату (рис. 2).

Ключові моменти стандартного видалення торако-дорзального клаптя та надійна техніка операції полягала в наступному. Орієнтиром при видаленні клаптя був передній край м'яза, який завжди видний при напруженні (спробі привести плече до тулуба). Виділення



Рис. 1. Візуалізація розмірів і форми клаптя, необхідного для заміщення істинного дефекту і покращення травлення стопи



Рис. 2. Перенесення відбитка потрібних розмірів і форми клаптя з урахуванням індивідуальних особливостей у зону його забору

трансплантату здійснювали під загальним знеболенням у положенні хворого на боці протилежному донорській зоні. Плече при цьому відведено на 90° від тулуба, а рука зігнута у лікті та зафіксована. Границею гарантованого кровозабезпечення шкірно-підшкірного фрагменту є лінія, яка відступає 2–3 см від зовнішнього краю торако-дорзального клаптя.

Після висічення некротизованих тканини дефект укривався клаптем, края його фіксувалися рідкими швами на шкіру і підшкірну клітковину. Після цього здійснювався мікрохірургічний шов вен клаптя, а потім і артерій з відповідними судинами на гомілці, за технікою «кінець в бік». Кровоток в клапті вмикався і контролювався впродовж 15–20 хвилин в операційній, після чого накладалися остаточні шви на шкіру. Кровопостачання в клапті контролювався в подальшому за кольором і «відповіддю на подразнення».

Детальна техніка виділення торако-дорзального клаптя, фіксації в реципієнтній зоні, включення в кровообіг та встановлення неврального впливу, а також можливі варіанти зміни його структури до потреб реципієнтної зони. При формуванні вимог до анатомії складного клаптя ми прийшли до необхідності його направлених змін з урахуванням етіології дефекту, складу втрачених тканин, їх локалізації, реальних розмірів, можливого функціонального навантаження тканин у зоні дефекту, проявів супутньої патології.

При формуванні вимог до анатомії складного клаптя ми прийшли до необхідності його направлених змін з урахуванням етіології дефекту, складу втрачених тканин, їх локалізації, реальних розмірів, можливого функціонального навантаження тканин у зоні дефекту, проявів супутньої патології (у трьох випадках у пересаджували по клаптю на обидві ноги та по одному на кисть та стопу) у всіх випадках вдалося зберегти кінцівку. Саме необхідність урахування вищезгаданих факторів та анатомії клаптя НМС вимагало від нас розробки та впровадження нових оригінальних методик [6, 7, 8], а саме направленої патогенетично обґрунтованої зміни його структури з урахуванням того з якою метою виконувалась мікросудинна трансплантація шкіряно-м'язового клаптя. Попередні розміри трансплантату встановлювали після клінічної та інструментальної оцінки об'єму дефіциту тканин реципієнтної зони, а окрім того враховували розміри трансформації тканин клаптя, яка виникає у віддалені строки після операції. При цьому визначали необхідні розміри та форму як м'язового, так шкірно-підшкірного фрагментів.

Ключові моменти стандартного видалення торако-дорзального клаптя та надійна техніка операції полягала в наступному. Орієнтиром при видаленні клаптя був передній край м'яза, який завжди видний при напруженні (спробі привести плече до тулуба). Виділення

трансплантату здійснювали під загальним знеболенням у положенні хворого на бoku протилежному донорській зоні. Плече при цьому відведено на 90° від тулуба, а рука зігнута у лікті та зафіксована. Границею гарантованого кровозабезпечення шкірно-підшкірного фрагменту є лінія, яка відступає 2–3 см від зовнішнього краю торако-дорзального клаптя.

Мультимодальне знеболювання проводилося з застосуванням Дексалгіну, парацетамолу на початковому періоді. Це дало змогу значно зменшити кількість опіодних анестетиків. Хворі отримували пентоксифілін з метою ендотеліопротекції. Використовували Цибор на протязі 7 діб – низькомолекулярний гепарин в профілактичних дозах 2500 ОД, після чого – аспірин.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У всіх випадках нам вдалося зберегти кінцівки з термінальними стадіями оклюзійно-стенотичними ураженнями артерій шляхом непрямої реваскуляризації дистальних відділів нижньої кінцівки з використанням торако-дорзального клаптя. Одним з яскравих прикладів є випадок ураження тканин ступні єдиної ноги у хворого 42 років з облітеруючим ендартеріїтом артерій нижньої кінцівки (рис. 3).

За рахунок внесення в зону ішемії стопи покращення аретріального постачання за рахунок включення в кровоток судин клаптя і перфузійного травлення підлеглих тканинах отримання стійки гарні результати. Спостереження 42 випадків впродовж 3 років свідчать про гарне виживання кінцівок – кінцівки

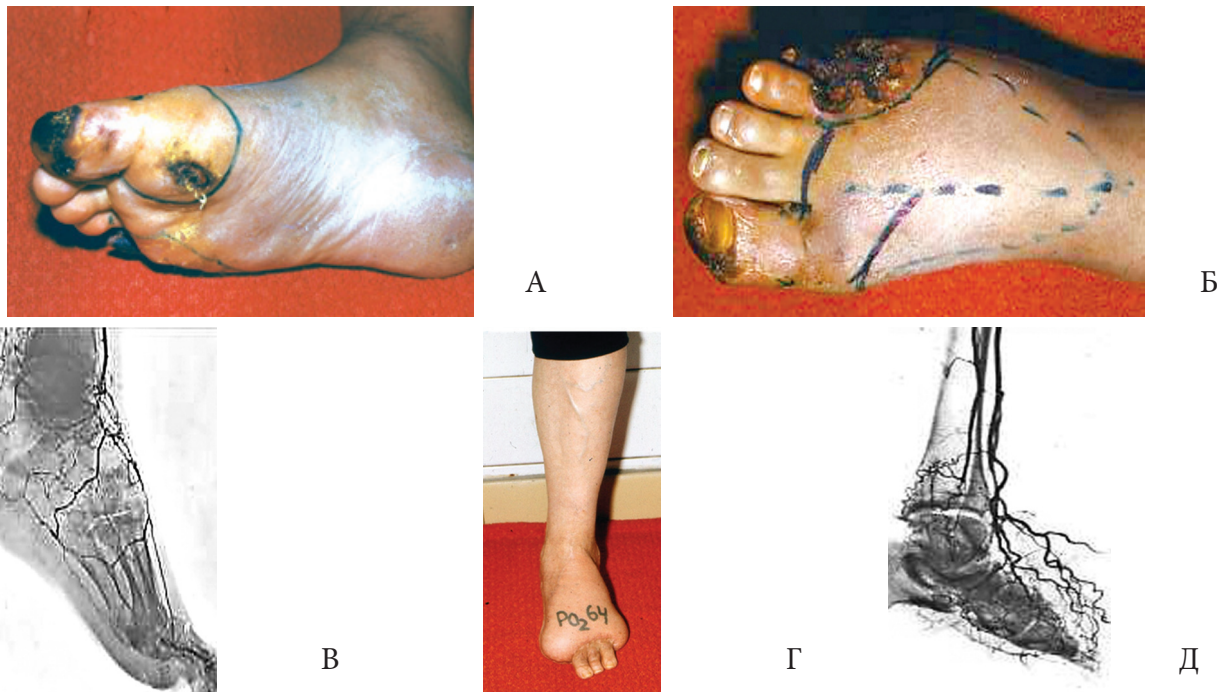


Рис. 3. Етапи лікування кінцівки з термінальними стадіями оклюзійно-стенотичними ураженнями артерій шляхом непрямої реваскуляризації дистальних відділів: А, Б – зовнішній вигляд до операції;

В – ангіограма судин стопи до операції; Г – зовнішній вигляд після операції;

Д – ангіографія ділянок стопи після втручання і насиченість киснем тканин стопи (pO_2 64%)

збереглися у 38 хворих (90,5%). З них 4 (9,5%) використовували милиці, 34(81,0%) – трости-ну. У 4 хворих (9,5%) була проведена ампутація кінцівки з приводу подовженої ішемії атеросклеротичної природи.

Таким чином, лікування кінцівки з термінальними стадіями оклюзійно-стенотичними

ураженнями артерій шляхом непрямої рева-скуляризації дистальних відділів торако-дор-зальним клаптем слід визнати ефективним. Метод має переваги у випадках дистального ураження артерій нижньої кінцівки, здійсню-ється внесенням в зону ішемії стопи артеріаль-ного постачання за рахунок включення в кро-

воток судин клаптя і перфузійного травлення підлеглих тканин. Пересадка клаптя повинна здійснюватися з урахуванням етіології дефекту, складу втрачених тканин, їх локалізації, реальних розмірів, можливого функціонального навантаження тканин у зоні дефекту, проявів супутньої патології. Питання складне, далеке від кінцевого вирішення. Воно потребує подальшого вивчення і удосконалення.

ВИСНОВКИ

1. Використаний спосіб лікування кінцівки з термінальними стадіями оклюзійно-стенотичними ураженнями артерій шляхом непрямої реваскуляризації торако-дорзальним клаптем ефективний, забезпечує 90,5% виживання кінцівки через 3 роки.
2. Попередні розміри трансплантату повинні встановлюватися після клінічної та інструментальної оцінки об'єму дефіциту тканин реципієнтної зони, враховувати розміри трансформації тканин.
3. Комбінована реваскуляризація нижніх кінцівок значно покращуючи гемодинаміку ішемізованої кінцівки.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Робота виконувалася відповідно до плану наукових досліджень «Теорія та методика ефективного лікування постраждалих з порушенням регенерації тканин». Номер держ. Реєстрації 0117U00263. Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ, Україна. Дослідження проведено за бюджетні кошти, не має зовнішніх джерел фінансування.

REFERENCES

1. Kim TI, Schneider PA. New Innovations and Devices in the Management of Chronic Limb-Threatening Ischemia(2020). J Endovasc Ther., Aug.27, (4),524-539. DOI: 10.1177/1526602820921555.

2. Dubský M, Jirkovská A, Bém R, Pagáčová L, Fejfarová V, Varga M, Skibová J, Langkramer S, Syková E. [2011].Terapie kritické končetinové ischemie u pacientů se syndromem diabetické nohy pomocí autologních kmenových bunek [Treatment of critical limb ischemia and diabetic foot disease by the use of autologous stem cells]. Vnitr Lek. 2011; May;57(5):451-5. Available on: <https://www.casopisvnitrnilekarstvi.cz/pdfs/vnl/2011/05/06.pdf>
3. Боднар П. Я. Прямая та непряма реваскуляризація при стегно-підколінно-гомілковій оклюзії в умовах хронічної ішемії. Дис. ... к.м.н. Івано-Франківськ, 2011: 139. Available on: [https://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214\(19\)30321-0/pdf](https://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214(19)30321-0/pdf)
4. Uccioli, L., Meloni, M., Izzo, V., Giurato, L., Merolla, S., & Gandini, R.. Critical limb ischemia: current challenges and future prospects. Vascular health and risk management, 2018: 14, 63–74. DOI: 10.2147/VHRM.S125065
5. Sobirov S.S., Gaibov A.D., Rafiev F.R., Kamolov A.N.. Modern principles and prospects of conservative treatment of chronic lower limb ischemia. Health care of Tajikistan. 2021;(3):95-104. DOI: 10.52888/0514-2515-2021350-95-104
6. Дрюк Н.Ф., Лисайчук Ю.С., Павличенко Л.Н., Пролеев А.В. Способ хирургического лечения облитерирующего эндартериита в стадии деструкции. Авторское свидетельство .1988, SU 1648391A1 A 61B 17/00. Бюл. №18.
7. Павличенко Л.М.. Відновна мікрохірургія в лікуванні оклюзуючих захворювань артерій гомілки та ступні. Авт. дис. к.м.н. Київ. 1994, 23с..
8. Лисайчук Ю.С., Галич С.П., Павличенко Л.М., Смірнова Л.М.. Неофіту Христакіс.. Спосіб взяття м'яза чи шкіряно-м'язевого трансплантата. Патент на винахід UA 10422A A61B17/00. 1996, Бюл. 4.

Article history:

Received: 22.04.2023

Revision requested: 26.04.2023

Revision received: 05.07.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

INDIRECT REVASCULARIZATION OF THE DISTAL PARTS OF THE LOWER LIMB AT THE TERMINAL STAGES OF OCCLUSIVE-STENOTIC LESIONS OF ITS ARTERIES

Lysaychuk Y.S., Pavlichenko L.M., Rushay A.K.

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

Anatoliyrushay@gmail.com

Background. The terminal stages of occlusive-stenotic lesions of the limb arteries, especially in the distal areas, are characterized by critical ischemia, the development of gangrenous lesions of parts of the limb, and despite the use of a number of medical and surgical methods, there is a threat of limb loss. An effective remedy in this situation is the removal of dead tissue, reliable closure of the defect with revascularization of ischemic tissue.

Aim: to improve the results of treatment of patients with distal occlusive lesions of the lower extremity arteries by combined revascularization using free soft tissue flaps.

Materials and methods. We studied 45 patients with terminal stages of occlusive-stenotic lesions of the distal lower extremities (lower legs and feet). Preliminary graft sizes were established after clinical and instrumental assessment of the volume of tissue deficiency in the recipient area. The expected size of the flap tissue transformation, which occurred in the long term after surgery, was also taken into account.

Results. The effectiveness of the method was studied in the transplantation of 48 flaps in 45 patients with terminal limb arterial lesions. The used method ensures 90.5% of limb survival after 3 years; 81.0% of good results - walking with a cane.

Conclusion. 1. The used method of treatment of limbs with terminal stages of occlusive-stenotic arterial lesions by indirect revascularization with a thoraco-dorsal flap is effective, provides 90.5% survival of the limb after 3 years. Preliminary graft sizes should be established after clinical and instrumental assessment of the volume of tissue deficiency in the recipient area, taking into account the size of tissue transformation. Combined revascularization of the lower extremities significantly improves the hemodynamics of the ischemic limb.

Key words: Lower extremities, critical ischemia, indirect revascularization.

ОСОБЛИВОСТІ ЛІКУВАННЯ БОЛЮ У ПАЦІЄНТІВ З ВОГНЕПАЛЬНИМИ ПОРАНЕННЯМИ В ЛІКАРСЬКО-СЕСТРИНСЬКИХ БРИГАДАХ

Горошко В.Р. <https://orcid.org/0000-0002-6305-7317>

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

dr.horoshko@ukr.net

Актуальність. Досвід військових лікарів у питаннях лікування болю пацієнтів після вогнепальних поранень, вказує на те, що ймовірно хроніфікація болю у даній категорії пацієнтів може відбуватись значно раніше – в момент поранення. Вогнепальні поранення супроводжуються болем високої інтенсивності. На етапі лікування в лікарсько-сестринських бригадах ефективно знеболення має важливе значення, адже у віддаленій перспективі більше 70% випадках у таких пацієнтів діагностується хронічний біль. Тому вивчення особливостей лікування болю на даному етапі лікування може відігравати важливу роль на шляху до покращення результатів їхнього лікування.

Ціль: Вивчити особливості лікування болю у пацієнтів після вогнепальних поранень на етапі лікування в лікарсько-сестринських бригадах.

Матеріали та методи. Ми використали пакеті EZR v.1.35 (R statistical software version 3.4.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Критерії: Шапіро-Уїлка, Манна-Уїтні, Фрідмана, хі-квадрат, поправку Бонферроні.

Результати. Результати дослідження лікування болю в лікарсько-сестринських бригадах у 769 пацієнтів після вогнепальних поранень вказує на те, що перед знеболенням значення ВАШ при поступленні на етапи лікування у лікарсько-сестринських бригадах в групі 1 статистично відрізнялись від групи 2 ($p < 0.001$). У групі 2 цей показник був вищим. Окрему увагу привертає до себе питання знеболення під час евакуації з поля бою до лікарсько-сестринської бригади, адже в обох групах спостереження на момент поступлення до лікарсько-сестринської бригади інтенсивність болю за ВАШ складає 7-8 балів, що відповідає критеріям високої інтенсивності.

Висновок. На етапі лікування в лікарсько-сестринських бригадах лікуванню болю у пацієнтів з вогнепальними пораненнями необхідно приділяти більше уваги – потрібно намагатись досягнути якісного контролю над болем. Ймовірно неефективно лікований біль високої інтенсивності потенційно може мати вплив на хронізацію болю в подальшому. Відсутність знеболення або його недостатність може мати значний вплив на віддалені результати лікування болю.

Ключові слова: хронічний біль, лікування болю, вогнепальні поранення, етап лікування, лікарсько-сестринські бригади.

Актуальність. Нещодавно Міжнародна асоціація з вивчення болю випустила клінічні критерії та систему класифікації ноципластичного болю, що вражає кістково-м'язову систему. Ці критерії замінили клінічні критерії 2014 року щодо переважного болю центральної сенсibilізації і враховували потребу клініцистів ідентифікувати (на ранній стадії) і правильно класифікувати пацієнтів із хронічним болем відповідно до фенотипу болю. Тим не менш, клініцисти та дослідники можуть заплутатися через безліч термінів і різноманітність доступних клінічних критеріїв. Клінічні критерії 2021 року для ноципластичного болю відповідають

клінічним критеріям 2014 року центральної сенсibilізації, але є більш надійними, комплексними, краще опрацьованими та мають більший потенціал [9].

Хронічний біль залишається однією з найпоширеніших проблем охорони здоров'я у світі. Покращуючи лікування болю, експерти нещодавно запровадили дослідницькі підтипи хронічного болю на основі запропонованих основних механізмів. Ноципластичний біль (наприклад, неспецифічний хронічний біль у попереку або фіброміалгія) є одним із таких підтипів, який може включати більшу етіологічну роль пластичності мозку, хворобливих

емоцій, викликаних життєвим стресом і травмою, та нездорової регуляції емоцій. Зокрема, кореляційні та поведінкові дані пов'язують гнів і способи його регулювання з наявністю та тяжкістю ноципластичного болю. Дослідження функціональної нейровізуалізації також показують, що ноципластичний біль і регуляція здорового гніву демонструють зворотні моделі активності в медіальній префронтальній корі та мигдалині; таким чином, покращення регуляції гніву може нормалізувати діяльність у цих регіонах [8].

Також дослідники розглядають структурні та функціональні зміни в хроніфікації болю та досліджують зв'язок між пам'яттю та розвитком хронічного болю. В результаті з'ясовано, що шляхи болю представляють собою складну сенсорну систему з когнітивними, емоційними та поведінковими впливами. Анатомічно гіпокамп, мигдалеподібне тіло та передня частина кори головного мозку – центральні для кодування та консолідації пам'яті – також залучені до емпіричних аспектів болю. Звичайні нейромедіатори та подібні механізми нервової пластичності (наприклад, центральна сенсibilізація, довгострокова потенціація) припускають механічний зв'язок між хронічним болем і пам'яттю. Ці анатомічні та механічні кореляції вказують на те, що хронічний біль і пам'ять тісно взаємодіють на кількох рівнях. Дослідження поздовжньої візуалізації свідчать про те, що просторово-часова реорганізація мозкової активності супроводжує перехід до хронічного болю, під час якого репрезентація болю поступово зміщується від сенсорних до емоційних і лімбічних структур. Тому автори прийшли до висновків, що хроніфікацію болю можна концептуалізувати, як спричинену активністю пластичності лімбічно-кортикального контуру, що призводить до реорганізації неокортекса. Стан лімбіко-кортикальної мережі визначає, чи є ноцицептивні сигнали тимчасовими чи хронічними, шляхом припинення шляхів або посилення сигналів, які посилюють емоційний компонент ноцицептивних входних даних. Таким чином, хронічний біль можна розглядати як стійкість спогадів про біль і/або нездатність погасити хворобливі спогади. В ідеалі фарма-

кологічні, фізичні та/або психологічні підходи мають повернути назад реорганізацію, що супроводжує хронічний біль [10, 11].

Досвід військових лікарів лікування болю у пацієнтів з вогнепальними пораненнями, набутий за, майже, 10 років війни, вказує на те, що ймовірно хроніфікація болю у даної категорії пацієнтів може відбуватись значно раніше – в момент поранення. Частота хронізації болю під час Операції Об'єднаних Сил у пацієнтів після вогнепальних поранень складає більше 70% [1, 6]. Відсутність якісного контролю над болем має вплив на віддалені результати лікування посттравматичних стресових розладів, що в свою чергу, впливає на якість життя [2, 3]. Біль стає безпосередньою причиною зв'язку із обставинами, в яких пацієнт отримав поранення [4, 5, 7].

На шляху до покращення результатів лікування болю у пацієнтів після вогнепальних поранень залишається не дослідженим етап лікарсько-сестринських бригад. Ці дані можуть відігравати важливу роль для розуміння хронізації болю.

Ціль: Вивчити особливості лікування болю у пацієнтів після вогнепальних поранень на етапі лікування в лікарсько-сестринських бригадах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дизайн дослідження склав ретроспективний аналіз результатів лікування 206 пацієнтів з ГКХ та його ускладненнями у клініці кафедри хірургії та ендоскопії ФПДО ЛНМУ імені Данила Галицького (Комунальне некомерційне підприємство «1 територіальне медичне об'єднання м. Львова», ВП «Лікарня Святого Пантелеймона») за період 2014-2018 р. р. Серед вибірки за гендерним складом переважали жінки – 135 (65,5%) осіб. Віковий розподіл пацієнтів був від 18 до 90 років (середній вік – $60,8 \pm 15,83$ років). Тривалість перебування хворих у стаціонарі становила від 1 до 41 діб. В усіх випадках виявлено форми гострого калькульозного холециститу: флегмонозний – 86 (41,7%), гангренозний – 115 (55,8%), перфоративний – 5 (2,4%) хворих.

Всю вибірку розділено на дві групи: пацієн-

ти з неускладненим ГКХ – 77,7% та ускладненими його формами – 22,3%. Основні параметри цих груп показано на Табл. 1.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналізуючи дані 769 пацієнтів після вогнепальних поранень ми розділили їх на дві групи з урахуванням даних кількості поранених анатомічних ділянок тіла: група 1 – 1 чи 2 ділянки та група 2 – 3 та більше. Таким чином, до групи 1 включено 630, а до групи 2 – 139 пацієнтів після вогнепальних поранень. Середній вік пацієнтів склав 31-33 роки, зріст – 178 см, вага – 78-80 кг. Середня кількість хірургічних операцій склала 5, тривалість – 125 хв.

При проведенні аналізу порівняння двох груп за критерієм Манна-Уїтні ми не виявили статистично значимої відмінності віку пацієнтів ($p=0.695$). Ці групи, також були співставимі за віком, зростом – $p=0.799$, вагою – $p=0.855$, кількістю хірургічних операцій – $p=0.423$, середньою тривалістю анестезії – $p=0.731$ та середньою тривалістю хірургічних операцій – $p=0.637$.

Аналізуючи дані інтенсивності болю за ВАШ при поступленні та після знеболення (таблиця 1, рисунок 1) видно, що при поступленні у всіх пацієнтів спостерігався сильний біль, а після знеболення біль відповідав критеріям середньої інтенсивності.

Аналіз даних демонструє, що перед знеболенням значення показника ВАШ при поступленні на етапи лікування у лікарсько-сестринських бригадах в групі 1 – пацієнти з локалізацією поранень в 1, чи 2 анатомічні ділянки тіла статистично відрізнялись від групи 2 – пацієнти з локалізацією поранень в 3 і більше анатомічних ділянок, тут $p<0.001$. У групі з кількістю поранених анатомічних ділянок тіла більше 3 цей показник був вищим, а вже після знеболення цей показник не відрізнявся в двох групах ($p=0.083$). Також, інтенсивність болю була високою при поступленні.

Протягом 2 діб спостереження та лікування в лікарсько-сестринських бригадах інтенсивності болю відповідала, в середньому, критеріям середньої інтенсивності (таблиця 2).

Відслідковуючи динаміку інтенсивності болю у пацієнтів групи 1 та групи 2 під час 1

Таблиця 1

Дані інтенсивності болю за ВАШ у пацієнтів після вогнепальних поранень (перед та після знеболення на етапі лікування в лікарсько-сестринські бригади)

Показник (бали)	Група 1 (n=630)	Група 2 (n=139)	p
ВАШ перед знеболенням у лікарсько-сестринських бригадах	7 (7-8)	8 (7-9)	<0.001
ВАШ після знеболення у лікарсько-сестринських бригадах	4 (4-4)	4 (4-4)	0.083

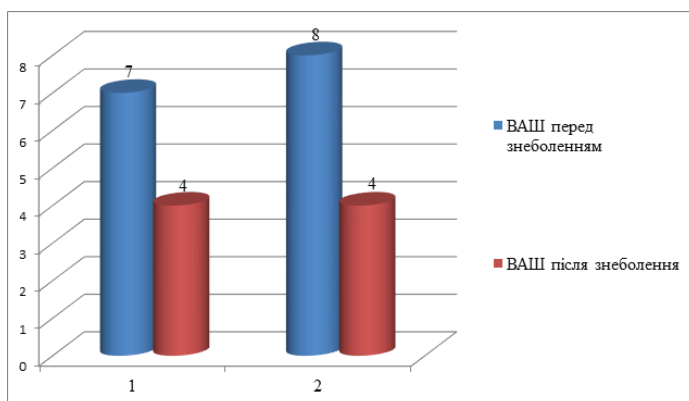


Рис. 1. Зміна інтенсивності болю у пацієнтів після вогнепальних поранень перед поступленням та після знеболення (на етапі лікування в лікарсько-сестринських бригадах)

Таблиця 2

Інтенсивність болю за ВАШ на етапі лікування в лікарсько-сестринських бригадах у пацієнтів з вогнепальними пораненнями

Етап лікування	Показник (бали)	Група 1 (n=630)	Група 2 (n=139)	p
Лікарсько-сестринські бригади	ВАШ під час 1 доби лікування	4 (4-4)	4 (4-4)	0.636
	ВАШ під час 2 доби лікування	4 (4-4)	4 (4-4)	0.465

доби спостереження ми бачимо, що цей показник під час першої та другої доби не відрізняється і, в середньому, складає 4 бали ($p=0.636$, $p=0.465$, відповідно). Що стосується інтервалів між знеболеннями, то тут, аналіз показав, що цей показник, в середньому склав 6 годин.

Враховуючи отримані дані з етапу лікарсько-сестринських бригад зрозумілим є те, що питанню лікуванню болю у пацієнтів після вогнепальними пораненнями необхідно приділяти більше уваги – потрібно намагатись досягнути якісного контролю над болем з урахуванням кількості поранених анатомічних ділянок тіла. При цьому, контроль інтенсивності болю є обов'язковим. Окрему увагу привертає до себе питання знеболення під час евакуації з поля бою до лікарсько-сестринської бригади, адже в обох групах спостереження на момент поступлення до лікарсько-сестринської бригади інтенсивність болю за ВАШ складає 7-8 балів, що відповідає критеріям високої інтенсивності. Ймовірно це потенційно може мати вплив на хронізацію болю в подальшому. Відсутність знеболення або його недостатність може мати значний вплив на віддалені результати лікування болю.

ВИСНОВКИ

1. При поступленні на етапи лікування у лікарсько-сестринські бригади (перед знеболенням) інтенсивність болю за ВАШ в групі 1 статистично відрізнялись від групи 2 ($p<0.001$) – групі 2 цей показник був вищим, тобто кількість поранених анатомічних ділянок має важливе значення для визначення тактики лікування болю для пацієнтів з вогнепальними пораненнями.
2. Порівнюючи динаміку інтенсивності болю за ВАШ під час лікування у лікарсько-сестринських бригадах (протягом 2 діб – до моменту евакуації на наступний етап лікування) виявлено відсутність різниці між групами спостереження: 1 доба – $p=0.636$, 2 доба – $p=0.465$.
3. Вивчаючи інтервали між знеболеннями під час першої доби, у пацієнтів двох груп спостереження, виявлено наявність статистично значимої відмінності між групами ($p=0.001$) – пацієнти, які отримали поранення в 3 та більше анатомічних ділянок тіла частіше потребували введення лікарських препаратів для знеболення ніж пацієнти, які отримали поранення в 1 чи 2 анатомічні ділянки тіла. На 2-гу добу спостереження такої різниці не спостерігалось ($p=0.818$).

Конфлікт інтересів. Автор даного рукопису стверджує, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Al Bothaigi SS, Al Fakih SA, Noman TA, Alharazi T, Atef TA. (2022). Safety of Primary Repair in Penetrating Colorectal Injuries during Current Yemeni War. *Asian Journal of Research in Surgery*. 7(1):8-22.
2. Beecher HK. (1956). Relationship of significance of wound to pain experienced. *JAMA*. 161(17):1609–1613. DOI: 10.1001/jama.1956.02970170005002
3. Tegegne BA, Lema GF, Fentie DY, Bizuneh YB. (2020). Severity of Wound-Related Pain and Associated Factors Among Patients Who Underwent Wound Management at Teaching and Referral Hospital, Northwest Ethiopia. *J Pain Res*. 13:2543-2551. DOI: 10.2147/JPR.S276449
4. Lee H, Kong V, Cheung C, Thirayan V, Rajaretnam N, Elsabagh A. (2022). Trends in the Management of Abdominal Gunshot Wounds Over the Last Decade: A South African Experience. *World J Surg*;46(5):998-1005. DOI: 10.1007/s00268-022-06469-1
5. Kuchyn Iu.L., Horoshko V.R. (2021). Predictors of treatment failure among patients with gunshot wounds and post-traumatic stress disorder. *BMC Anesthesiol*. 21, 263. DOI: 10.1186/s12871-021-01482-8
6. Kuchyn Iu.L., Horoshko V.R. (2022). Pain syndrome in patients with gunshot wounds of the limbs and post-traumatic stress disorders. *EMERGENCY MEDICINE*. 17(7), 24–31. DOI: 10.22141/2224-0586.17.7.2021.244591
7. Zeineddin A, Williams M, Nonez H, Nizam W, Olufajo OA, Ortega G. 2021. Gunshot Injuries in American Trauma Centers: Analysis of the Lethality of Multiple Gunshot Wounds. *Am Surg*. 87(1):39-44.
8. Yarns BC, Cassidy JT, Jimenez AM. At the intersection of anger, chronic pain, and the brain: A mini-review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022 Apr;135:104558. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2022.104558
9. Nijs J, Lahousse A, Kapreli E, Bilika P, Saraçoğlu İ, Malfliet A, Coppieters I, De Baets L, Leysen L, Roose E, Clark J, Voogt L, Huysmans E. Nociceptive Pain Criteria or Recognition of Central Sensitization? Pain Phenotyping in the Past, Present and Future. *J Clin Med*. 2021 Jul 21;10(15):3203. DOI: 10.3390/jcm10153203
10. McCarberg B, Peppin J. Pain Pathways and Nervous System Plasticity: Learning and Memory in Pain. *Pain Med*. 2019 Dec 1;20(12):2421-2437. DOI: 10.1093/pm/pnz017
11. Damo E, Simonetti M. Axon Guidance Molecules and Pain. *Cells*. 2022 Oct 6;11(19):3143. DOI: 10.3390/cells11193143

Article history:

Received: 12.06.2023

Revision requested: 25.06.2023

Revision received: 05.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

PECULIARITIES OF PAIN MANAGEMENT IN PATIENTS WITH GUNSHOT WOUNDS IN MEDICAL AND NURSING TEAMS

Horoshko V.R.

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

dr.horoshko@ukr.net

Background. The experience of military doctors in the treatment of pain in patients after gunshot wounds indicates that chronicization of pain in this category of patients may occur much earlier - at the time of injury. Gunshot wounds are accompanied by high intensity pain. At the stage of treatment in medical and nursing teams, effective pain relief is important, because in the long term, more than 70% of such patients are diagnosed with chronic pain. Therefore, studying the features of pain management at this stage of treatment can play an important role in improving the results of their treatment.

Aim: To study the peculiarities of pain treatment in patients after gunshot wounds at the stage of treatment in nursing teams.

Materials and methods. We used EZR v.1.35 (R statistical software version 3.4.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Criteria: Shapiro-Wilk, Mann-Whitney, Friedman, chi-square, Bonferroni correction.

Results. The results of the study of pain management in nursing teams in 769 patients after gunshot wounds indicate that before analgesia, the VAS values on admission to the stages of treatment in nursing teams in group 1 were statistically different from group 2 ($p < 0.001$). In group 2, this figure was higher. Special attention should be paid to the issue of pain relief during evacuation from the battlefield to the medical and nursing team, because in both groups of observation at the time of admission to the medical and nursing team, the pain intensity of the VAS was 7-8 points, which meets the criteria for high intensity.

Conclusion. At the stage of treatment in nursing teams, more attention should be paid to the treatment of pain in patients with gunshot wounds, as we should try to achieve high-quality pain control. Probably ineffectively treated high intensity pain can potentially have an impact on the chronicization of pain in the future. The absence or insufficiency of analgesia can have a significant impact on the long-term outcomes of pain treatment.

Key words: chronic pain, pain management, gunshot wounds, stage of treatment, nursing teams.

THE RELATIONSHIP BETWEEN INSULIN RESISTANCE, ADIPOKINES, LIPIDS AND LOW-GRADE INFLAMMATION IN PATIENTS BY CARDIOVASCULAR DISEASE TREATED WITH STATINS

Maksymets T.A <https://orcid.org/0000-0003-2659-1083>

Sklyarova H.E. <https://orcid.org/0000-0003-3667-6304>

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

maksymets.t@gmail.com

Background. Hypolipidemic and hypotensive therapy enables to improve prognosis and decrease the risk of cardiovascular pathologies, however, an intensive regimen of prescribing statins for patients with arterial hypertension (AH) combined with obesity can promote development of hyperinsulinemia and insulin resistance (IR), which are predictors of type 2 diabetes mellitus development.

Aim: To investigate the relationship between insulin resistance, adipokines, lipids and low-grade inflammation in patients with cardiovascular disease treated by statins.

Materials and methods: 81 patients with overweight and/or obesity and AH or combination of AH and CAD were involved. Patients' age ranged from 35 to 79 years, among them there were 51 males and 30 females. ACE inhibitors and ARBs, diuretics were used for treatment of AH; atorvastatin was prescribed orally in the dose 20 mg or 40 mg per day permanently as hypolipidemic therapy.

Lipid spectrum, biochemical indices and glycated hemoglobin were determined according to common techniques on an analyzer "BioSystems" (Spain) using original kits of reagents. Concentration of insulin and hsCRP were determined on immunochemoluminescent analyzer "Immulite 2000" (Siemens, Germany). Insulin resistance index was calculated by the formula:

$HOMA-IR = \text{fasting insulin (mcIU/ml)} \times \text{fasting glucose (mmol/L)} / 22.5$

In HOMA-IR value > 2.77, patients were considered insulin resistant.

Leptin was measured using an ELISA kit DRG (USA). Adiponectin was quantified using the ELISA kit Mediagnost (Germany).

Results. It has been revealed in our investigation that body mass index, the level of systolic blood pressure, triglycerides, highly sensitive C-reactive protein and leptin were reliably higher in patients with IR, whereas adiponectin level was lower. These associations are confirmed by the results of studying correlations between IR index, adipokines, anthropometric and biochemical parameters. Thus, thorough evaluation of carbohydrate and adipokine profile in patients with cardiovascular pathology combined with obesity, who are subjected to hypolipidemic therapy, is an important factor in preventing type 2 diabetes mellitus.

Conclusion. Assessment of the risk of statin-induced diabetes mellitus is important for determining intensity of statin therapy, namely, presence of insulin resistance, levels of hsCRP and adipokines should be considered at the beginning and during treatment.

Keywords: insulin resistance, arterial hypertension, atorvastatin, leptin, adiponectin.

Background. Arterial hypertension (AH), dyslipidemia and insulin resistance (IR) are the main risk factors of cardiovascular pathology, which are combined within metabolic syndrome in overweight and obese patients. Angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACE-inhibitors) and angiotensin receptor blockers (ARBs) are used for the treatment of hypertension in this category of patients. The choice of such medicines is caused by the fact that despite similar reduction of AH with various drugs, only ACE-inhibitors and ARBs improve sensitivity of tissues to insulin.

For correction of dyslipidemia, inhibitors of GMG-CoA-reductase (statins) are prescribed, which can provide sufficient decrease in concentration of low-density lipoproteins (LDL). The drugs of choice in this case are atorvastatin and rosuvastatin. Although hypolipidemic therapy enables to decrease a general risk of cardiovascular diseases, more data appear which prove that these medicines can increase the risk of development of type 2 diabetes mellitus in some categories of patients. Thus, assessment of patients' metabolic status is an important aspect, which includes medical history, anthropometric data, lipid, carbohydrate and adipokine profile (namely, leptin and adiponectin levels and their correlation), liver function indices and low-grade inflammation (highly sensitive C-reactive protein (hsCRP)).

The influence of abdominal obesity should also be considered as it plays an important role in development of AH, coronary artery disease (CAD) and IR due to regulation impairment in the system of adipokines, among which correlation between leptin and adiponectin is of utmost importance. Elevation of leptin concentration in blood serum is associated with AH and obesity, besides, leptin concentration correlates with IR and anthropometric parameters. Unlike leptin, low level of adiponectin in blood serum negatively correlates with IR, hyperinsulinemia, AH and hyperlipidemia. Hyperinsulinemia, irrespective of glycemic profile, can promote increase in noradrenaline level and increase sodium reabsorption with further increase in the volume of extracellular fluid and AH occurrence. Besides, it should be considered that hypertension in overweight and obese patients is associated with

low-grade inflammation in perivascular adipose tissue [1].

To prevent death due to cardiovascular diseases and other causes, primary and secondary hospitalizations, it is necessary to achieve and maintain target levels of LDL at such level as long as possible, which can be accomplished by using statins [2].

Atorvastatin possesses a number of pleiotropic effects, including – anti-inflammatory and antithrombotic ones, can improve endothelium function, stabilize a lid of an atherosclerotic plaque, inhibit the processes of fibrosis and hypertrophy of the myocardium, accelerate its perfusion and angiogenesis, as well as has nephroprotective influence [3].

It should be noted that development of type 2 diabetes mellitus depends on many factors. On a patient's side, these are age, gender, body weight, physical activity, nutrition, family history of type 2 diabetes mellitus, smoking, initial condition of glucose metabolism, concomitant diseases (polycystic ovaries, hyperprolactinemia) and intake of some drugs (diuretics, β blockers). Concerning statin therapy, it is a chemical structure of a statin (pitava- and pravastatin do not have a negative influence on IR), duration of use and dose [4].

Taking into account conclusions of numerous comprehensive investigations and their subanalyses, which demonstrate that treatment with statins can provoke development of diabetes mellitus, the aim of our research was assessment the relationship between insulin resistance, adipokines, lipids and low-grade inflammation in patients with cardiovascular disease treated by statins.

Aim: To investigate the relationship between insulin resistance, adipokines, lipids and low-grade inflammation in patients with cardiovascular disease treated by statins.

MATERIALS AND METHODS

Clinical trial was conducted with accordance to the Declaration of Helsinki, The Convention for the Protection of Human Rights and Biomedicine, Legislation of Ukraine and agreed by Ethical

Committee Danylo Halytsky Lviv National Medical University, protocol №3, 25.03.2019. All patients signed an informed consent before the study. 81 patients with overweight and/or obesity and AH or combination of AH and CAD were involved. None of them had diabetes mellitus, severe heart, kidney or liver failure that could influence the condition of insulin resistance. Patients' age ranged from 35 to 79 years, among them there were 51 males and 30 females. The patients received treatment according to recommendations of European Society of Cardiology (ESC, 2019). ACE inhibitors and ARBs, diuretics were used for treatment of AH; atorvastatin was prescribed orally in the dose 20 mg or 40 mg per day permanently as hypolipidemic therapy. Atorvastatin dose was administered depending on individual initial level of LDL, calculating percentage of reduction necessary for achieving target level.

Anthropometric measurements were performed to calculate body mass index (BMI), waist circumference (WC) was determined for establishment of the degree and nature of obesity according to the WHO criteria (1997) and International Diabetes Federation (IDF, 2006, 2015).

Lipid spectrum, biochemical indices (ALT, AST, uric acid, glucose) and glycated hemoglobin (HbA1c) were determined according to common techniques on an analyzer "BioSystems" (Spain) using original kits of reagents. Concentration of insulin and hsCRP were determined on immunochemoluminescent analyzer "Immulite 2000" (Siemens, Germany) using appropriate reagents "Immulite 2000 Insulin" (USA) and "Immulite 2000 hsCRP" (USA).

Insulin resistance index was calculated by the formula:

$HOMA-IR = \text{fasting insulin (mIU/ml)} \times \text{fasting glucose (mmol/L)} / 22.5$

In HOMA-IR value > 2.77, patients were considered insulin resistant.

Leptin was measured using an ELISA kit DRG (USA). Adiponectin was quantified using the ELISA kit Mediagnost (Germany). Both ELISA procedures were performed using TECAN device.

Statistical analysis was performed by means of the library SciPy, programming language Python.

The results of values are presented as mean arithmetic with statistical deviation. Normality of distribution was determined by Shapiro-Wilk test. Values with normal distribution are presented as confidence interval (95%), and the values, distribution of which significantly differed from normal, - as interval 25% and 75% percentiles. Comparison of groups was conducted by means of Mann-Whitney U test. To establish connections between indices, Spearman and Pearson rank correlations were applied.

RESULTS AND DISCUSSION

All patients were distributed into two groups depending on the presence of insulin resistance: 1st group (n=45) HOMA-IR<2.77 and 2nd group (n=36) HOMA-IR>2.77. Such distribution is caused by the necessity of considering insulin resistant status when choosing the regimen of hypolipidemic therapy to prevent the development of type 2 diabetes mellitus.

Anthropometric and hemodynamic parameters of the examined individuals are given in table 1.

Comparing groups, it was established that BMI, WC and systolic blood pressure were reliably higher in patients with IR ($p<0.01$).

ALT, AST indices, level of uric acid and glycated hemoglobin did not differ reliably between groups. Among parameters of lipid spectrum, a reliable difference was detected only for triglycerides (TG) ($p<0.01$).

Reliably higher concentration of hsCRP ($p<0.01$), glycated hemoglobin ($p=0.02$), glucose, insulin and leptin (all $p<0.01$) was detected in patients with IR (for all $p<0.01$), while adiponectin level was reliably lower in this group of patients ($p<0.01$). Respectively, correlation between leptin and adiponectin in the presence of insulin resistance shifted with leptin prevalence.

Results of correlations demonstrated distinct difference between the factors, which promote IR development and protective factors. A positive correlation was observed between the levels of leptin and BMI, WC, TG, Glucose, Insulin, HOMA-IR and hsCRP. Respectively, a positive correlation was observed between HOMA-IR and BMI, WC, ALT, Uric acid, TG, HbA1, Glucose and

Table 1

Antropometric characteristics, blood pressure, heart rate

Baseline Characteristic	1st group, HOMA-IR<2.77 n=45	2nd group, HOMA-IR>2.77 n=36	P
Age, years	59.0 (50.0;69.0)	55.9 (52.9;58.8)	0.04
BMI, kg/m ²	29.77 (28.35;31.19)	33.50 (31.67;35.33)	<0.01
WC, cm	102.29 (99.55;105.03)	110.00 (104.00;121.25)	<0.01
Systolic blood pressure, mmHg	137,62 (133,59;141,65)	144,86 (140,86;148,86)	0.02
Diastolic blood pressure, mmHg	79,24 (76,41;82,07)	81,47 (78,04;84,90)	>0.05
Heart rate beats per minute	75,22 (72,38;78,06)	74,61 (70,82;78,40)	>0.05

Table 2

The value of biochemical parameters, adipokines and hsCRP

Baseline Characteristic	1st group, HOMA-IR<2.77 n=45	2nd group, HOMA-IR>2.77 n=36	P
ALT, U/l	19.36 (16.31;22.41)	19.30 (13.35;37.63)	0.10
AST, U/l	24.40 (22.01;26.79)	24.35 (19.30;29.08)	0.38
Uric Acid, mmol/l	303.35 (264.30;398.65)	360.97 (331.57;390.37)	0.09
HDL, mmol/l	1.19 (1.10;1.28)	1.20 (1.12;1,28)	0.27
LDL, mmol/l	2.73 (2.19;3.63)	2.83 (2,43;3.23)	0.45
Cholesterol, mmol/l	4.65 (3.91;5.53)	5.06 (4.67;5.45)	0.16
Triglycerides, mmol/l	1.28 (1.01;1.79)	1.98 (1.53;2.51)	<0.01
hsCRP, mg/l	1.76 (0.82;2.85)	3.05 (1.67;5.39)	<0.01
HbA1, %	4.99 (4.79;5.19)	5.22 (4.78;6.11)	0.02
Glucose, mmol/l	5.60 (5.38;5.82)	6.19 (5.76;6.92)	<0.01
Insulin, μ IU/ml	6.66 (5.96;7.36)	16.55 (12.95;23.15)	<0.01
Leptin, ng/ml	12,20 (5.60;16,20)	24.90 (14.05;47.10)	<0.01
Adiponektin, μ g/ml	13.23 (11.45;15.01)	8.41 (5.89;12.75)	<0.01
Leptin /Adiponektin	0.93 (0.47;1.79)	2.82 (1.75;5.34)	<0.01

Leptin levels. At the same time, adiponectin levels negatively correlated with ALT, Uric acid, TG, HBA1, Glucose, Insulin, HOMA-IR and hsCRP.

Comprehensive epidemiological investigations recorded that the higher arterial pressure and LDL

level were, the higher was the risk of death due to cardiovascular diseases (stroke, infarction and heart failure) [2].

According to modern knowledge about pathogenesis of CAD, AH and type 2 diabetes

Table 3

Evaluation of correlations between serum adipokines and insulin resistance in the subjects with cardiovascular disease (n = 81)

	Leptin	Adiponektin	HOMA-IR
BMI	0,375	NS	0,307
WC	0,347	NS	0,378
ALT	NS	-0,486	0,263
Uric Acid	NS	-0,397	0,287
Triglycerides	0,220	-0,227	0,482
hsCRP	0,376	-0,231	0,252
HbA1c	NS	-0,320	0,290
Glucose	0,237	-0,456	-
Insulin	0,443	-0,332	-
HOMA-IR	0,442	-0,374	-

NS – non-significant

mellitus, abdominal obesity, hyperinsulinemia and IR are independent risk factors and predictors of development of such diseases. Hyperinsulinemia of compensatory nature, which appears to overcome IR, results in activation of sympathoadrenal and renin-angiotensin systems, which, in its turn, causes increase in the levels of catecholamines, renin and angiotensin II. Increased level of insulin inhibits activity of lipoprotein lipase, which causes hypertriglyceridemia and decrease in concentration of high-density lipoproteins (HDL). This mechanism explains associations of increased level of triglycerides with impairments of carbohydrate metabolism [4].

To confirm the role of IR and hyperinsulinemia in pathogenesis of essential hypertension, numerous investigations were conducted, especially in the recent decade. Most of them established a significant correlation between insulin resistance/hyperinsulinemia and AH [5].

Considering a key role of atherosclerosis in pathogenesis of cardiovascular pathology, it should be mentioned that administration of statins in patients with confirmed cardiovascular disease is a compulsory measure of secondary prophylaxis. LDL level is a target index in this case, and medicines of choice are atorvastatin and rozuvasatin, which are most frequently prescribed in clinical practice [2]. Levels of total cholesterol,

LDL and HDL did not differ reliably between groups, since patients in both groups were taking atorvastatin.

However, a reliable difference was observed between levels of triglycerides, elevation of their concentration is associated with IR (TG-HOMA-IR $r = 0.48$, $p < 0.05$), as atorvastatin does not have influence on triglycerides.

Besides influence on LDL, inhibitors of GMG-CoA-reductase demonstrate a wide spectrum of pleiotropic effects, including anti-inflammatory, antioxidant, antithrombotic ones, can stabilize atherosclerotic plaques and improve endothelium function. These properties can significantly reduce the incidence of complications and mortality due to cardiovascular diseases; reduce the need in hospitalization, increase duration and quality of life [6].

For patients with existing type 2 diabetes mellitus, benefit of statins is undoubted, since decrease in incidence of cardiovascular events and general mortality was demonstrated in many investigations, besides, positive effect of their intake in patients with type 2 diabetes mellitus exceeded the one in patients without type 2 diabetes mellitus. In patients with confirmed type 2 diabetes mellitus, aggressive statin therapy is recommended, which should be prescribed irrespective of the initial LDL level [7].

However, treatment with statins can have possible side effects. These effects usually depend on many factors, such as type, dose and duration of statin administration, patient's peculiarities (age, kidney function, condition of carbohydrate metabolism), and interaction with other medicines, prescribed for an underlying or concomitant pathology. One of the described side effects is negative influence on glucose metabolism and development of new cases of type 2 diabetes mellitus on the background of hypolipidemic therapy. Although benefit of statin therapy for cardiological patients is undoubted, an issue of their diabetogenic influence remains urgent and disputable [8, 9, 10, 11].

Our investigation was hospital-based and included patients with cardiovascular pathology combined with obesity: 45 without IR and 36 – with IR, aged 58.17 (55.95;60.39) years.

Besides assessment of factors of cardiovascular risk associated with IR, analysis of indices of patients' metabolic status was conducted depending on HOMA-IR value (Table 2). The results of investigation showed that the patients with HOMA-IR < 2.77 had reliably lower values of BMI and WC, levels of uric acid, triglycerides, hsCRP, Glucose, insulin, leptin and increased amount of adiponectin.

Analyzing demographic, anthropometric, biochemical and immunological indices of patients with cardiovascular pathology, who were administered atorvastatin and antihypertensive drugs, attention was paid to the most important correlations, associated with IR. A reliable correlation was observed between HOMA-IR and triglycerides ($r = 0.48$), leptin ($r = 0.44$), WC ($r = 0.38$) and BMI ($r = 0.31$). Less evident correlations were recorded between HOMA-IR and HbA1 ($r = 0.29$), uric acid ($r = 0.29$), ALT ($r = 0.26$) and hsCRP ($r = 0.25$). The role of leptin is important in the development of this pathology, indices of which positively correlated with HOMA-IR ($r = 0.44$), hsCRP ($r = 0.38$), BMI ($r = 0.37$) and WC ($r = 0.35$). Thus, only adiponectin indices negatively correlated with HOMA-IR, hsCRP, TG, Glu and insulin (Table 3).

Despite the fact that statin-induced diabetes mellitus is considered prognostically favorable [12], it is important not to allow/induce its development. On the background of statin intake and normalization of LDL in patients with obesity, negative influence of other factors associated with obesity and IR is recorded. Such factors are hyperleptinemia, hypoadiponectinemia, hyperuricemia and they should be considered during treatment of patients. In normal response of tissues to insulin, intensive statin therapy can be administered, whereas treatment scheme should be corrected in IR (correction of dose, combination of statins with ezetimibe, replacement with other type of statin).

CONCLUSION

Assessment of the risk of statin-induced diabetes mellitus is important for determining intensity of statin therapy, namely, presence of insulin resistance, levels of hsCRP and adipokines should be considered at the beginning and during treatment.

Conflict of interest. The authors of this manuscript claim that there is no conflict of interest during the research and writing of the manuscript.

Sources of funding. The execution of this study and the writing of the manuscript were accomplished without external funding.

REFERENCES

1. Bell BB, Rahmouni K. Leptin as a Mediator of Obesity-Induced Hypertension. *Curr Obes Rep.* 2016 Dec;5(4):397-404. DOI: 10.1007/s13679-016-0231-x
2. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2017;38(32):2459-72. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx144

3. Kavalipati N, Shah J, Ramakrishnan A, Vasnawala H. Pleiotropic effects of statins. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2015;19(5):554–62. DOI: 10.4103/2230-8210.163106
4. Kohli P, Knowles JW, Sarraju A, Waters DD, Reaven G. Metabolic Markers to Predict Incident Diabetes Mellitus in Statin-Treated Patients (from the Treating to New Targets and the Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels Trials). *Am J Cardiol*. 2016;118(9):1275–81. DOI: 10.1016/j.amjcard.2016.07.054
5. Chan D, Pang J, Watts G. Pathogenesis and management of the diabetogenic effect of statins: a role for adiponectin and coenzyme Q10? *Curr Atheroscler Rep*. 2015;17(1): 472. DOI: 10.1007/s11883-014-0472-7
6. Mancusi C, Izzo R, di Gioia G, Losi MA, Barbatto E, Morisko C. Insulin Resistance the Hinge Between Hypertension and Type 2 Diabetes. *High Blood Press Cardiovasc Prev* 2020;27:515–26. DOI: 10.1007/s40292-020-00408-8
7. Zhou Q, Liao JK. Statins and cardiovascular diseases: From cholesterol lowering to pleiotropy. *Curr Pharm Des*. 2009;15:467–78. DOI: 10.2174/138161209787315684
8. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016;37(39):2999–3058. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw272.
9. Lee SE, Sung JM, Cho IJ, Kim HC, Chang HJ. Risk of new-onset diabetes among patients treated with statins according to hypertension and gender: Results from a nationwide health-screening cohort. *PLoS One*. 2018;13(4):e0195459. DOI: 10.1371/journal.pone.0195459.
10. Parida S, Swain TR, Routray SN, Maiti R. Effect of Atorvastatin on Glycaemic Parameters in Normoglycaemic and Prediabetic Subjects: A Prospective, Panel Study. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(2):FC04-FC09. DOI: 10.7860/JCDR/2017/23741.9427.
11. Kei A, Rizos EC, Elisaf M. Statin use in prediabetic patients: rationale and results to date. *Ther Adv Chronic Dis*. 2015;6(5):246–51. DOI: 10.1177/2040622315596118.
12. Corrao G, Monzio Compagnoni M, Rea F, Merlino L, Catapano AL, Mancina G. Clinical significance of diabetes likely induced by statins: Evidence from a large population-based cohort. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017;133:60–68. DOI: 10.1016/j.diabres.2017.08.008.

Article history:

Received: 01.04.2023

Revision requested: 05.04.2023

Revision received: 05.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ, АДИПОКІНАМИ, ЛІПІДАМИ ТА НИЗЬКО-РІВНЕВИМ ЗАПАЛЕННЯМ У ПАЦІЄНТІВ З СЕРЦЕВО-СУДИННИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ, ЯКІ ЛІКУВАЛИСЯ СТАТИНАМИ

Максимоць Т.А., Склярова О.Є.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

maksymets.t@gmail.com

Актуальність. Гіполіпідемічна та гіпотензивна терапія дозволяє покращити прогноз та знизити ризик розвитку серцево-судинної патології, однак інтенсивний режим призначення статинів хворим на артеріальну гіпертензію (АГ) у поєднанні з ожирінням може сприяти розвитку гіперінсулінемії та інсулінорезистентності (ІР), що є предикторами виникнення цукрового діабету 2 типу.

Ціль: дослідити зв'язок між інсулінорезистентністю, адипокінами, ліпідами та низькорівневим запаленням у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями, які лікуються статинами.

Матеріали і методи. Залучено 81 пацієнта з надлишковою масою тіла та/або ожирінням та АГ або поєднанням АГ та ІХС. Вік хворих від 35 до 79 років, серед них 51 чоловік і 30 жінок. Для лікування АГ використовували інгібітори АПФ та БРА, діуретики; аторвастатин призначали перорально в дозі 20 мг або 40 мг на добу постійно. Ліпідний спектр, біохімічні показники та глікований гемоглобін визначали за загальноприйнятими методиками на аналізаторі "BioSystems" (Іспанія) з використанням оригінальних наборів реактивів. Концентрацію інсуліну та високочутливого С-реактивного протеїну (вчСРП) визначали на імунохемолюмінесцентному аналізаторі «Immune-lite 2000» (Siemens, Німеччина). Індекс інсулінорезистентності розраховували за формулою:

$\text{НОМА-IR} = \text{інсулін натще (мкМО/мл)} \times \text{глюкоза натще (ммоль/л)} / 22,5$

При значенні НОМА-IR > 2,77 пацієнти вважалися інсулінорезистентними.

Лептин вимірювали за допомогою набору ELISA DRG (США). Кількісне визначення адипонектину проводили за допомогою набору ELISA Medagnost (Німеччина).

Результати. У нашому дослідженні було виявлено, що індекс маси тіла, рівень систолічного артеріального тиску, тригліцеридів, вчСРП та лептину були достовірно вищими у пацієнтів з ІР, тоді як рівень адипонектину був нижчим. Це підтверджується результатами вивчення кореляційних зв'язків між НОМА-IR, адипокінами, антропометричними та біохімічними параметрами. Таким чином, ретельна оцінка вуглеводного та адипокінового профілю у хворих із серцево-судинною патологією в поєднанні з ожирінням, яким проводиться гіполіпідемічна терапія, є важливим чинником профілактики цукрового діабету 2 типу.

Висновок. Оцінка ризику виникнення статин-індукованого цукрового діабету є важливою для визначення інтенсивності гіполіпідемічної терапії, а саме наявності інсулінорезистентності, рівень вчСРП та адипокінів слід враховувати на початку та під час лікування.

Ключові слова: інсулінорезистентність, артеріальна гіпертензія, аторвастатин, лептин, адипонектин.

ВМІСТ 25-ГІДРОКСИКАЛЬЦІФЕРОЛУ (25(OH)D) В ПЛАЗМІ КРОВІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ НА РІЗНИХ СТАДІЯХ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

Нетребін Л.І. <http://orcid.org/0000-0002-7136-8860>

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

epkophthalmology@gmail.com

Актуальність. На сьогодні набула потреби вивчення наслідків вітамінD-дефіцитних станів на перебіг тяжких ускладнень цукрового діабету (ЦД), зокрема діабетичної ретинопатії (ДР), коли плейотропний метаболічний ефект вітаміну D суттєво знижується.

Ціль: дослідити вміст 25-гідроксикальціферолу (25(OH)D) в плазмі крові у хворих на цукровий діабет 2 типу на різних стадіях діабетичної ретинопатії.

Матеріали та методи. Проведено відкрите спостережне одноцентрове одномоментне вибіркове дослідження у хворих на ДР при ЦД2. Включення пацієнтів у групи з ДР відбувалося відповідно до протоколу ETDRS (2019). Дослідження проведено у 90 пацієнтів (173 ока) з ДР (чоловіки та жінки, середній вік – $59,4 \pm 3,4$ років, середній рівень глікованого гемоглобіну (HbA_{1c}) – $7,82 \pm 0,51$ (%)), яких залежно від стадії ДР (непроліферативна, препроліферативна та проліферативна) розподілили на 3 групи. Пацієнтам було проведено стандартне ендокринологічне та офтальмологічне обстеження. Вміст HbA_{1c} визначали методом рідинної хроматографії, концентрацію 25(OH)D в плазмі крові – хемілюмінесцентним імунним аналізом. Статистичний аналіз включав ANOVA, однофакторний дисперсійний і регресійний аналіз. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати. Показано, що концентрація 25(OH)D в плазмі крові у хворих на ЦД2 вірогідно знижується на кожній стадії ДР (I стадія – $19,8$ [$18,8$ – $22,6$] нг/мл, II стадія – $16,9$ нг/мл [$15,3$ – $18,8$], III стадія – $14,3$ [$12,5$ – $15,8$] нг/мл, $p < 0,001$). При цьому із зростанням стадії ДР частота виявлення дефіциту 25(OH)D (концентрація менше 20 нг/мл) вірогідно збільшується ($50,0\%$ – I стадія, $86,2\%$ – II стадія, $94,3\%$ – III стадія, $p < 0,001$). Показано, що ризик високого ступеня ДР вірогідно знижується ($p < 0,001$) при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл ($BH = 0,64$ ($0,53$ – $0,78$)).

Висновки. Із зростанням стадії ДР при ЦД2 вміст 25(OH)D в плазмі крові зменшується ($p < 0,001$), при цьому зростає питома вага пацієнтів з дефіцитом 25(OH)D, особливо на III стадії ДР ($p < 0,001$). Аналіз зв'язку стадії ДР з концентрацією 25(OH)D в плазмі крові показав зниження ризику високого ступеня ДР при зростанні концентрації 25(OH)D.

Ключові слова: діабетична ретинопатія; цукровий діабет 2 типу; вітамін D

Актуальність. Останнім часом серед наукової спільноти велике значення набувають роботи, присвячені можливому впливу гіповітамінозу D на ризик виникнення та перебіг цукрового діабету 2 типу (ЦД) та його мікросудинних ускладнень, особливо діабетичної ретинопатії (ДР) як провідної причини зниження та втрати зору [1, 2]. Це пов'язано, з одного боку, значною поширеністю вітамін D-дефіцитних станів у світі [3], а з іншого – фактично світовою пандемією ЦД 2 типу [4]. Наразі відчувається недостатність наукових досліджень, присвячених дослідженню вмісту вітаміну D [5], взаємозв'язку між рівнем

вітаміну D і поширеністю ДР у хворих на ЦД 2 типу в європеїській популяції, у тому числі і в Україні [6, 7]. Тому вивчення взаємовідносин між статусом вітаміну D та перебігом ДР у хворих на ЦД 2 типу є актуальним питанням сучасної офтальмології та діабетології.

Ціль: Дослідити вміст 25-гідроксикальціферолу (25(OH)D) в плазмі крові у хворих на цукровий діабет 2 типу на різних стадіях діабетичної ретинопатії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведено відкрите спостережне одноцентрове одномоментне вибіркове дослідження хворих на ДР при ЦД 2 типу. Критеріями включення у дослідження були добровільна інформована згода на участь у дослідженні, вік – понад 18 років, наявність ЦД 2 типу та ДР, відповідність протоколу ETDRS [8].

Критеріями невключення були ЦД 1 типу, тривалий прийом нестероїдних протизапальних препаратів, глюкокортикоїдів, хронічні запальні захворювання кишківника, системний остеопороз, ендокринна патологія (акромегалія, гіпо-, гіперпаратиреоз, тиротоксикоз, синдром Кушинга, гіпопітуїтаризм, гіпогонадізм, спадкові ендокринопатії), онкологічні та проліферативні захворювання, в тому числі в анамнезі, психічні розлади, хронічна хвороба нирок термінальної стадії або з протеїнурією, пошкодження зорового нерва, клінічно значуща макулопатія, глаукома, зріла катаракта, вагітність та лактація.

Діагноз ЦД 2 типу встановлювався згідно Уніфікованого клінічного протоколу первинної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Цукровий діабет 2 типу» та Наказу МОЗ України №1118 від 21.12.2012 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 2 типу» (чинний за посиланням https://zakononline.com.ua/documents/show/8047___730659). Діагноз ДР виставляли згідно наказу МОЗ України від 22.05.2009 №356 в редакції наказу МОЗ України від 05.08.2009 №574 («Протокол надання медичної допомоги хворим з діабетичною ретинопатією»), згідно яких рекомендується виділяти три головні стадії ДР: непроліферативну (НПДР), препроліферативну (ППДР) і проліферативну (ПДР) (чинний за посиланням https://zakononline.com.ua/documents/show/48894___48894).

Клінічні дослідження у хворих на ДР та ЦД2 проводили відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (Сеул, 2008), відповідних наказів МОЗ України (№ 281 від 01.11.2000, № 355 від 25.09.2002.09), в редакції наказу МОЗ України № 574 від 05.08.2009 р.,

№1118 від 21.12.2012 р.). Згода на проведення наукових досліджень була видана комісією з біоетики.

Дослідження проведено у 90 пацієнтів (173 ока) з ДР (чоловіки та жінки, середній вік склав $59,4 \pm 3,4$ років, середній рівень глікованого гемоглобіну (HbA_{1c}) – $7,82 \pm 0,51$ (%)), яких залежно від стадії ДР було розподілено на 3 групи (непроліферативна – НПДР, препроліферативна – ППДР, проліферативна – ПДР). При порівнянні пацієнтів не було виявлено вірогідних відмінностей між групами при розподілі за статтю ($p > 0,05$), але вік пацієнтів з ППДР та з ПДР був вищим ($p < 0,05$) ніж у групі з НПДР. Пацієнти групи з ПДР мали вищий ($p < 0,05$) вміст HbA_{1c} .

Всім пацієнтам було виконано стандартне офтальмологічне обстеження (візометрія, рефрактометрія, дослідження внутрішньоочного тиску та поля зору, гоніоскопія, біомікроскопія, офтальмоскопія, оптико-когерентна томографія, дослідження очного дна на фундус-камері).

Концентрацію глюкози в плазмі крові визначали глюкозооксидантним методом, вміст HbA_{1c} – методом високошвидкісної колонкової рідинної хроматографії на аналізаторі «D 10TM» (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) з використанням реактивів Bio-Rad. Концентрацію вітаміну D за його стабільною формою 25-гідроксикальціферол ($25(OH)D$) досліджували хемілюмінесцентним імунним аналізом за допомогою набору реагентів “Access® 25OH Vitamin D Total” фірми BECKMAN COULTER, Inc. (Brea, California, USA).

Статистичний аналіз включав однофакторний дисперсійний і регресійний аналіз і здійснювався у пакеті EZR (v. 1.35, Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan). Для кількісних показників представлено середнє значення (M), стандартна помилка ($\pm m$), 95% довірчий інтервал (ДІ). Для порівняння показників використано ANOVA, дисперсійний та регресійний аналізи. Для аналізу зв'язку між концентрацією в плазмі крові $25(OH)D$ та стадіями ДР використовували метод побудови логістичних моделей регресії. Для якісних ознак розраховували абсолютну та відносну (%) частоту, для порівняння використано критерій

χ^2 . Апостеріорні порівняння були проведені за відповідними критеріями множинних порівнянь: критерій Шеффе (для кількісних ознак у випадку нормального закону розподілу); постеріорний непараметричний критерій Данна (для кількісних ознак у випадку відмінного від нормального закону розподілу); точний критерій Фішера з урахуванням поправки Бонферроні (для якісних ознак) У всіх випадках відмінності вважали статистично значущими при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Концентрація 25(OH)D в плазмі крові у хворих на ЦД 2 типу на стадіях НПДР, ППДР та ПДР представлена в таблиці 1. Встановлено, що із зростанням стадії ДР вміст 25(OH)D в

плазмі крові вірогідно знижується на кожній стадії від НПДР (I стадія) до стадії ПДР (III стадія). Так, пацієнти групи НПДР мали, у середньому, найвищу концентрацію 25(OH)D, а пацієнти з ПДР – найнижчу з усіх 3-ох груп порівняння ($p < 0.001$).

Розподіл абсолютної кількості пацієнтів на їхню питому вагу (частота) у розподілі недостатності або дефіциту 25(OH)D на всіх стадіях ДР представлено в таблиці 2. Показано, що із зростанням стадії ДР частота виявлення дефіциту 25(OH)D (концентрація менше 20 нг/мл) збільшується (в абсолютних значеннях та відносних), а частота недостатності 25(OH)D (від 20 до < 30 нг/мл) зменшується ($p < 0.001$). При цьому дефіцит 25(OH)D у групі ДР I стадії спостерігався у 50% пацієнтів, що було рідше

Таблиця 1

Вміст 25(OH)D в плазмі крові хворих на цукровий діабет 2 типу на різних стадіях діабетичної ретинопатії, нг/мл (Me, $Q_1 - Q_3$)

Показник	I стадія ДР (НПДР) (n=26)	II стадія ДР (ППДР) (n=29)	III стадія ДР (ПДР) (n=35)	Рівень значущості відмінності, p
25(OH)D, нг/мл	19.8 (18.8-22.6) ^{2,3}	16.9 (15.3-18.8) ^{1,3}	14.3 (12.5-15.8) ^{1,2}	<0.001

Примітки: Представлено медіанне значення (Me) та міжквартильний інтервал ($Q_1 - Q_3$). Для порівняння використано Критерій Крускала-Уолліса. Апостеріорні порівняння проведені за критерієм множинних порівнянь Данна.

^{1,2,3} – відмінність від I, II та III стадії ДР статистично значуща, $p < 0.05$.

Таблиця 2

Розподіл хворих на цукровий діабет 2 типу на групи з недостатністю або дефіцитом 25(OH)D в плазмі крові на різних стадіях діабетичної ретинопатії

Показник		I стадія ДР (НПДР) (n=26)	II стадія ДР (ППДР) (n=29)	III стадія ДР (ПДР) (n=35)	Рівень значущості відмінності, p
Недостатність\ дефіцит 25(OH)D	0	13 (50%) ^{2,3}	4 (13.8%) ¹	2 (5.7%) ¹	<0.001
	1	13 (50%) ^{2,3}	25 (86.2%) ¹	33 (94.3%) ¹	

Примітки: Розраховано абсолютні значення та відносна (%) частота, для порівняння використано критерій Пірсона χ^2 -квадрат. Апостеріорні порівняння проведені за точним критерієм множинних порівнянь Фішера з урахуванням поправки Бонферроні.

^{1,2,3} – відмінність від I, II та III стадії ДР статистично значуща, $p < 0.05$.

Таблиця 3

Модель логістичної регресії прогнозування ризику високого ступеня діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від концентрації 25(OH)D в плазмі крові

Факторна ознака	Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності ВШ від 1, p	Показник відношення шансів моделі, ВШ (95% ДІ)
25(OH)D, нг/мл	-0.45 $\pm$ 0.10	<0.001	0.64 (0.53 – 0.78)

Примітка: ВШ – відношення шансів, ДІ – довірчий інтервал.

($p < 0.05$), ніж у групі ДР II стадії (86.2%) та ще рідше, ($p < 0.05$) ніж у групі ДР III стадії (94.3%), відмінності вірогідні ($P < 0.001$).

Для аналізу зв'язку стадії ДР з концентрацією 25(OH)D в плазмі крові було використано метод побудови моделей логістичної регресії. Прогнозували вірогідність ризику високого (ППДР чи ПДР) ступеня ретинопатії (результуюча змінна $Y=1$, 64 пацієнти та $Y=0$ – 26 пацієнтів). У таблиці 3 наведені результати проведеного однофакторного аналізу.

Результати математичного аналізу виявили, що ризик високого ступеня ДР вірогідно знижується ($p < 0.001$) при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл (ВШ = 0.64 (0.53 – 0.78)).

Аналіз літературних джерел показав, що одним із перших досліджень аналогічного спрямування в Україні є робота І.В. Паньківа та співавт. (2022) [7], де на основі вивчення концентрації 25(OH)D в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу з ДР або без неї у спостережному дослідженні типу «випадок – контроль» було підтверджено взаємозв'язок недостатності та дефіциту 25(OH)D і наявності ДР як такої у хворих на ЦД 2 типу. Так, у пацієнтів із ДР була вірогідно нижча концентрація 25(OH)D, ніж у осіб без ретинопатії (14,6 нг/мл vs 23,9 нг/мл за середніми даними, $p < 0,05$), а багатофакторний аналіз підтвердив вірогідний взаємозв'язок між наявністю ДР і вмістом 25(OH)D. Крім того, у хворих з ДР була встановлена більш висока частка дефіциту/недостатності вітаміну D (81,7 % без ДР проти 94,5 % з ДР), але без урахування стадійності патологічного процесу в сітківці ока [7].

У нашому дослідженні концентрація 25(OH)D сягала – 19,8 нг/мл vs 16,9 vs 14,3 нг/мл – за середніми значеннями, а частота виявлення окремо дефіциту 25(OH)D – 50,0% vs 86,2% vs 94,3% – відповідно до I, II та III стадії ДР. Методом побудови моделей логістичної регресії із урахуванням стадії ДР нами показано вірогідне саме зниження ризику прогресування ДР при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл.

Наші результати, в цілому, узгоджуються з іншими попередніми початковими роботами, в яких визначали взаємозв'язок між вмістом 25(OH)D та ДР при ЦД 2 типу. Так, у хворих на ЦД 2 типу та ДР виявлені нижчі рівні 25(OH)D в крові у порівнянні з контролем, а вітамін D був незалежним предиктором розвитку ДР [9]. Інше масштабне популяційне перехресне дослідження підтвердило зворотний зв'язок рівнів вітаміну D із наявністю ДР [10].

Ближчими до нашої роботи є дослідження Suzuki A. et al. (2006) [11], в якій показано, що пацієнти з ЦД 2 типу та проліферативною ДР мають нижчий рівень 25(OH)D у сироватці крові. Інше дослідження з найбільшою кількістю залучених до аналізу осіб з ДР показало необмежений зв'язок між рівнями 25(OH)D і ДР, особливо при прогресуючій загрозливій зорі ДР. Це дослідження виявило подвійне збільшення загрозливої зору ДР у осіб з рівнем 25(OH)D нижче 15,57 нг/мл [12]. В нашій роботі концентрація 25(OH)D у 14,3 нг/мл виявлена саме на проліферативній стадії ДР.

Підсумовуючи результати роботи, можна стверджувати, що вона відповідає світовому тренду вивчення співвідношення між гіпові-

тамінозом D і ризиком розвитку ЦД та його ускладнень та суттєво доповнюють його, особливо для української популяції.

ВИСНОВКИ

1. Із зростанням стадії ДР при ЦД 2 типу вміст 25(OH)D в плазмі крові хворих вірогідно зменшується ($p < 0.001$).

2. При цьому вірогідно зростає питома вага пацієнтів з дефіцитом 25(OH)D, особливо на III стадії ДР ($p < 0.001$).

3. Аналізу зв'язку стадії ДР з концентрацією 25(OH)D в плазмі крові показав зниження ризику високого ступеня ДР ($p < 0.001$) при зростанні концентрації 25(OH)D в плазмі крові на кожен нг/мл ($BSP = 0.64 (0.53 - 0.78)$).

Конфлікт інтересів. Автор даного рукопису стверджує, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Робота була виконана на кафедрі офтальмології та оптометрії післядипломної освіти Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, є фрагментом НДР кафедри «Розробка нових методів діагностики, лікування та профілактики рефракційних, запальних, дистрофічних і травматичних захворювань органу зору та їх клініко-експериментальне обґрунтування» (номер держреєстрації 0120U105324, 2022–2026 р.р).

REFERENCES

1. Yau JWY, et al; Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes care* Mar. 2012;35(3):556-64. DOI: 10.2337/dc11-1909
2. Shah A. PDB16 Prevalence of Diabetic Retinopathy in the United States, 2011–2014. *Value in Health*. 2016;19(3):A199. DOI: 10.1016/j.jval.2016.03.1323.
3. Manson JoE, Brannon PM, Rosen CJ, Taylor CL. Vitamin D Deficiency – Is There Really a Pandemic? *N Engl J Med*. 2016;375:1817–1820. DOI: 10.1056/NEJMp1608005

4. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. Available on: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition>.
5. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr*. 2016;103:1033-1044. DOI: 10.3945/ajcn.115.120873.
6. Комісаренко ЮІ. Вітамін D та його роль у регуляції метаболічних розладів при цукровому діабеті. *Ліки України*. 2013;4:51-54. Available on: http://nbuv.gov.ua/UJRN/likukr_2013_4_11.
7. Pankiv VI, Yuzvenko TYu, Pashkovska NV, Pankiv IV. The relationship between serum vitamin D concentrations and development of diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus. *Mіžnarodnij endokrinologіčnij žurnal*. 2022;18(8):432–435. DOI: 10.22141/2224-0721.18.8.2022.1221.
8. Solomon SD, Goldberg MF. ETDRS Grading of Diabetic Retinopathy: Still the Gold Standard? *Ophthalmic Res*. 2019;62(4):190–195. DOI: 10.1159/000501372.
9. Aksoy H, Akçay F, Kurtul N, Baykal O, Avci B. Serum 1,25 dihydroxy vitamin D (1,25(OH)2D3), 25 hydroxy vitamin D (25(OH) D) and parathormone levels in diabetic retinopathy. *Clin Biochem*. 2000 Feb;33(1):47–51. DOI: 10.1016/s0009-9120(99)00085-5.
10. He R, Shen J, Liu F, et al. Vitamin D deficiency increases the risk of retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2014 Dec;31(12):1657-64. DOI: 10.1111/dme.12581.
11. Suzuki A, Kotake M, Ono Y, et al. Hypovitaminosis D in type 2 diabetes mellitus: Association with microvascular complications and type of treatment. *Endocr J*. 2006 Aug;53(4):503-10. DOI: 10.1507/endocrj.k06-001.
12. Ahmadi H, Azar ST, Lakkis N, Arabi A. Hypovitaminosis d in patients with type 2 diabetes mellitus: a relation to disease control and complications. *ISRN Endocrinol*. 2013;641098. DOI: 10.1155/2013/641098.

Article history:

Received: 27.02.2023

Revision requested: 01.03.2023

Revision received: 13.03.2023

Accepted: 25.03.2023

Published: 30.03.2023

BLOOD PLASMA 25-HYDROXYCALCIPHEROL (25(OH)D) CONTENT IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS AT DIFFERENT STAGES OF DIABETIC RETINOPATHY

Netrebin L.I.

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

epkophthalmology@gmail.com

Background. To date, it has become necessary to study the consequences of vitamin D-deficiency conditions on the course of severe complications of diabetes mellitus (DM), in particular diabetic retinopathy (DR), when the pleiotropic metabolic effect of vitamin D is significantly reduced.

Aim: to investigate the content of 25-hydroxycalciferol (25(OH)D) in the blood plasma of patients with type 2 diabetes at various stages of diabetic retinopathy.

Materials and methods. An open observational single-center one-stage selective study was conducted. The study was approved by the Local Ethics Committee. 90 patients (173 eyes) with T2D and DR (men and women; mean age – 59,4±3,4 years; mean HbA_{1c} – 7,82±0,51 %) were assigned to 3 groups, based on the stage of DR (nonproliferative, preproliferative and proliferative). The inclusion of patients in groups with DR was carried out in accordance with the ETDRS protocol (2019). Statistical analysis was included ANOVA and regression analysis.

Results. It was shown that the blood plasma concentration of 25(OH)D in patients with T2D probably decreases at each stage of DR (I stage – 19.8 [18.8–22.6] ng/ml, II stage – 16.9 ng/ml [15.3–18.8], stage III – 14.3 [12.5–15.8] ng/ml, $p < 0.001$). At the same time, as the stage of DR increases, the frequency of detection of 25(OH)D deficiency (concentration less than 20 ng/ml) probably increases (50.0% – stage I, 86.2% – stage II, 94.3% – stage III, $p < 0.001$). It was shown that the risk of a high degree of DR probably decreases ($p < 0.001$) with an increase in the concentration of 25(OH)D in blood plasma for each ng/ml (OR = 0.64 (0.53 – 0.78)).

Conclusion. With an increase in the stage of DR, the content of 25(OH)D in blood plasma decreases ($p < 0.001$). At the same time, the proportion of patients with 25(OH)D deficiency increases, especially at stage III DR ($p < 0.001$). An analysis of the relationship between the stage of DR and the concentration of 25(OH)D showed a decreasing in the risk of a high degree of DR with an increase of the 25(OH)D.

Key words: diabetic retinopathy, type 2 diabetes, vitamin D.

ВМІСТ ЕНДОТЕЛІНУ-1 В ПЛАЗМІ КРОВІ ПАЦІЄНТІВ З ДІАБЕТИЧНОЮ РЕТИНОПАТІЄЮ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ MTHFR, MTRR І MTR

Ригов С.О. <https://orcid.org/0000-0002-3495-7471>

Прокопенко Ю. В. <https://orcid.org/0000-0001-5479-0579>

Національний Медичний Університет ім. О.О. Богомольця, Київ Україна

yuliaprokopenko1986@gmail.com

Актуальність. Судинна і позасудинна мікроциркуляція ока є багатим джерелом ендотеліну-1 (ЕТ-1), що може сприяти аномальній гемодинаміці сітківки при діабетичній ретинопатії. У хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД2) встановлено підвищення рівня циркулюючого ЕТ-1 і виявлено позитивну кореляцію між його рівнями в крові й ступенем мікроангіопатії. Підсилює розвиток ендотеліальної дисфункції та мікросудинних ускладнень, високий рівень гомоцистеїну, який виникає через генетично детермінований дефіцит ферментів фолатного циклу визначає в організмі що, оскільки гомоцистеїн викликає порушення структури ендотеліальних клітин.

Ціль: вивчення вмісту ЕТ-1 в плазмі крові пацієнтів з діабетичною ретинопатією на тлі цукрового діабету 2 типу в залежності від поліморфних варіантів генів MTHFR, MTRR і MTR, як важливого патогенетичного шляху розвитку ендотеліальної дисфункції.

Матеріали та методи. Дослідження включало 83 хворого (83 око) із ЦД2, у яких за результатами офтальмологічного обстеження за шкалою ETDRS виявлено непроліферативну та проліферативну ДР. Контрольна група (КГ) включала 35 осіб без ЦД, які зіставлені із пацієнтами за статтю, віком, індексом маси тіла. Поліморфізм генів визначали за допомогою ПЛР-реал тайм на автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500, вміст ЕТ-1 визначали в плазмі крові методом ELISA.

Висновки. Потенційними факторами ризику розвитку ДР на тлі ЦД 2 можна вважати генотип CC гену rs1801133, генотип GG гену rs1805087, поліморфізм AC та генотип CC гену rs1801131. Генотип CC гену rs1801133 супроводжувався максимальним 14-ти кратним збільшенням ЕТ-1 у пацієнтів з ДР. Мінорний генотип GG гену rs1805087 зустрічався тільки у пацієнтів з ДР, і характеризувався максимальним вмістом ЕТ-1. У носіїв поліморфізму AC гену rs1801131 виявили 8-и кратне збільшення ЕТ-1 при розвитку ДР. Мінорний генотип CC цього гену у пацієнтів зустрічався у двічі частіше, і вміст ЕТ-1 із розвитком ДР зростав в 5 разів. Ймовірно, факторами утримання розвитку ДР є наявність поліморфізму CT гену rs1801133 та генотипу AA rs1801131. Поліморфізм CT гену rs1801133 супроводжувався найменшим вмістом ЕТ-1. Генотип AA гену rs1801131 зустрічався в 1,3 рази рідше, вміст ЕТ-1 у цих осіб був найменшим і при розвитку ДР практично не змінювався.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, цукровий діабет 2 типу, біохімічні показники, генотип, ендотеліальна дисфункція.

Актуальність. Діабетична ретинопатія (ДР) є найчастішою причиною втрати зору у дорослих віком 20–74 років. Сьогодні у 285 мільйонів людей діагностований цукровий діабет, і третина з них мають погіршення зору через наявність діабетичного макулярного набряку або проліферативної ДР [1]. Через поширеність ожиріння у світі, пацієнтів із ДР на тлі цукрового діабету 2 типу (ЦД2) зустрічається значно більше [2].

Патофізіологія ДР обумовлена тривалою гіперглікемією, що виникає через недостат-

ній глікемічний контроль. Підвищений рівень глюкози в крові викликає аберантну регуляцію низки біохімічних шляхів, що в кінцевому підсумку призводить до вироблення супероксиду та активації окислювального стресу в тканинах сітківки. Мітохондріальна дисфункція, запалення і секреція судинного ендотеліального фактора росту VEGF призводять до нейронального апоптозу та неоваскуляризації [3]. Сьогодні існує безліч доказів, що саме ендотеліальна дисфункція, яка визначається як дисбаланс ендотеліальних судинозвужуваль-

них та судинозширювальних речовин, відіграє вирішальну роль у патогенезі та прогресуванні перелічених вище судинних ускладнень. Вказані механізми щільно пов'язані з гіперекспресією ендотелінів та їхньою активністю [4–7].

У хворих на ЦД2 встановлено підвищення рівня циркулюючого ендотеліну-1 (ЕТ-1) – потужного судинозвужуючого пептиду. Виявлено позитивну кореляцію між рівнями в плазмі ЕТ-1 і ступенем мікроангіопатії. Судинна і позасудинна мікроциркуляція ока є багатим джерелом ЕТ-1, що може сприяти аномальній гемодинаміці сітківки при діабетичній ретинопатії. На додаток до безпосереднього впливу на звуження судин, підвищення рівня ЕТ-1 може сприяти ендотеліальній дисфункції через гальмівну дію на продукцію оксиду азоту. Отже, порушення продукції ЕТ-1 у структурах ока можна розглядати як маркер і предиктор патологічних діабетичних змін вже на ранніх стадіях ДР [8].

Також, є доведеним факт про підвищення у пацієнтів з ЦД2 рівню гомоцистеїну, як того що циркулює в крові, так і того що накопичується в тканинах. Високий рівень гомоцистеїну є доволі небезпечним фактором і призводить до розвитку, або посиленню ендотеліальної дисфункції, мікросудинних ускладнень. Гомоцистеїн викликає порушення структури ендотеліальних клітин, гематоенцефалічного бар'єру, призводить до ішемії та неоваскуляризації сітківки, підвищення рівня VEGF, активації стресу ендоплазматичного ретикулуму та окисного стресу [9]. Провідна причина накопичення гомоцистеїну полягає в недостатній кількості та/або дисфункції ферментів і кофакторів, пов'язаних з його метаболізмом. Основу цього складає генетично детермінований дефіцит ферментів фолатного циклу, визначений поліморфізмами генів MTHFR C677T (rs 1801133); MTHFR A1298C (rs 1801131); MTR A2756G (rs 1805087).

Ціль: вивчення вмісту ендотеліну-1 (ЕТ-1) в плазмі крові пацієнтів з діабетичною ретинопатією на тлі цукрового діабету 2 типу в залежності від поліморфних варіантів генів MTHFR, MTRR і MTR, як головного етіологічного чинника розвитку ендотеліальної дисфункції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження включало 83 хворого (83 око) із ЦД2, у яких за результатами офтальмологічного обстеження виявлено різні стадії ДР. Усім хворим були виконані загальноприйняті офтальмологічні обстеження: візометрія, рефрактометрія, статична периметрія Humphrey, тонометрія, біомікроскопія, за необхідністю – гоніоскопія, офтальмоскопія лінзою Goldman, оптична когерентна томографія на OCT DRI Triton (Topcon, Японія) у режимі macula. Обстеження сітківки проводились фундус-камерою з фотографуванням очного дна у 7 перехресних полях згідно з протоколом Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS). Флюоресцентну ангіографію виконували за показаннями.

Стадії ДР визначали за шкалою ETDRS, що надало нам змогу визначити дві групи спостереження, які відрізнялися ступенем ушкодження: НПДР група (43 хворих, 43 ока) до якої включили пацієнтів із початковою, помірною та тяжкою непроліферативною ДР, ПДР група (40 хворих, 40 очей), яку склали пацієнти із – початковою, помірною та тяжкою та прогресуючою проліферативною ДР. У всіх пацієнтів досліджувався рівень гормонів щитоподібної залози для виключення наявності гормональних порушень. Контрольну групу (КГ) 35 осіб без ЦД становили пацієнти, які не мали діагностованих порушень метаболізму і звернулися з метою профілактичного огляду в клініко-діагностичну лабораторію Університетської клініки НМУ імені О.О. Богомольця. Молекулярно-генетичні дослідження виконували в лабораторії Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О.Богомольця за стандартними методиками. Вміст ендотеліну-1 визначали в плазмі крові методом твердофазного імуно-ферментного аналізу (ІФА, ELISA) на фотометрі для мікропланшетів HiPo MPP-96, (Biosan, Латвія), із використанням планшетного промивача 3D-IW8 Inteliwasher, (Biosan, Латвія) та термошейкера PST-60HL-4, (Biosan, Латвія) за допомогою набору: тест-система Human ET-1 (Endothelin 1) ELISA Kit (Elabscience, США,

Catalog No: E-EL-H0064 чутливість 0,75 пг/мл, межі вимірювання 1,25–80 пг/мл). Обробка даних здійснювалася за допомогою програмного забезпечення QuantAssay 0.8.2.6.

Для дослідження була використана венозна кров. Забір проводили в умовах маніпуляційного кабінету у пробірки із фіолетовою кришкою об'ємом 4 мл, що містили (EDTA, K3) як антикоагулянт. Після центрифугування відбирали плазму в окрему пробірку типу Епендорф для дослідження ІФА, а осад (шар із клітинами) залишали для генетичних досліджень. Матеріал маркували та заморожували при температурі -20°C . Для виділення геномної ДНК використовували набори PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA, виробник INVITROGEN (США). На першому етапі проводили інкубацію з Digestion Buffer та протеїназою K і шляхом центрифугування позбавлялись від продуктів денатурації та лізису, з метою попередження контамінації додатково інкубували з РНК-азою. Для аналізу поліморфних ДНК-локусів використовували уніфіковані тест-системи TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США). Досліджували поліморфізми наступної локалізації: MTHFR C677T (rs 1801133); MTHFR A1298C (rs 1801131); MTR A2756G (rs 1805087). Інкубацію досліджуваного матеріалу проводили з системою праймерів, які фланкують ділянки ДНК генів, що аналізуються, в присутності ДНК-полімерази в автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500 (Applied Biosystems, США). За допомогою синхронізованої з ампліфікатором програми RealTime_PCR оброблялись одержані дані.

Статистичний аналіз даних проводився за допомогою пакету IBM SPSS Statistics 23 та програми MedStat. Перевірку розподілу кількісних показників по всій вибірці даних на відповідність закону Гауса проводили за допомогою одновибірочного критерію Шапиро-Уилка. Більшість параметрів не відображали нормальний розподіл, тому використовували непараметричні критерії. Дані у групах порівнювали за допомогою рангового однофакторного аналізу за критерієм Крускала-Уолліса, з урахуванням

поправки Бонфероні. Відмінності у групах вказували у вигляді p із зазначенням рівня значущості. Вважали, що дані відрізняються за $p < 0,05$. Для опису даних у групах наводили значення медіани (Me) та стандартної похибки. Для інтервальної оцінки медіани розраховували 95% довірчий інтервал. Діаграми надавали у вигляді стовпчиків із вказанням (ДІ 95%) або Box-and-Whisker plot де центральна коробка являє собою значення від нижнього до верхнього квартиля (від 25 до 75 процентилей). Середня лінія представляє медіану. Рядок простягається від мінімального до максимального значення, виключаючи значення «назовні» і «далеко», які відображаються як окремі точки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз вмісту ET-1 в плазмі досліджуваних осіб показав очікуване підвищення протеїну в групі пацієнтів. Його вміст складав $16,07 \pm 1,5$ пг/мл, що було у 8 разів вище ніж у контролі $2,18 \pm 1,4$ пг/мл (рис. 1). Вміст ET-1 достовірно не розрізнявся в групах пацієнтів із різною стадією ДР, хоча був значно вище на стадії Pre_NPDR і складав $23,68 \pm 4,9$ пг/мл та PDR $19,96 \pm 2,77$ пг/мл.

Для вивчення асоціації вмісту ET-1 із різними варіантами поліморфізмів генів фолатного циклу ми визначили генотипи досліджуваних осіб. Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів генів rs1801133, rs1805087, rs1801131 показав відсутність зв'язку поліморфізмів основних генів, що кодують ферменти фолатного циклу із розвитком ДР на тлі ЦД2 у порівнянні із особами без діабету. Дані, про відсоток осіб, які мають різні варіанти генотипів наводимо на рисунку 2.

Вміст ET-1 суттєво і достовірно розрізнявся в осіб із різними генотипами генів фолатного циклу, а також мав суттєві відмінності в осіб із однаковим генотипом але у групах пацієнтів та контрольній (рис. 3).

Серед представників різних варіантів поліморфізму гену MTHFR C677T (rs 1801133) максимальний вміст ET-1 зустрічається у осіб із мінорним генотипом TT. В контрольній гру-

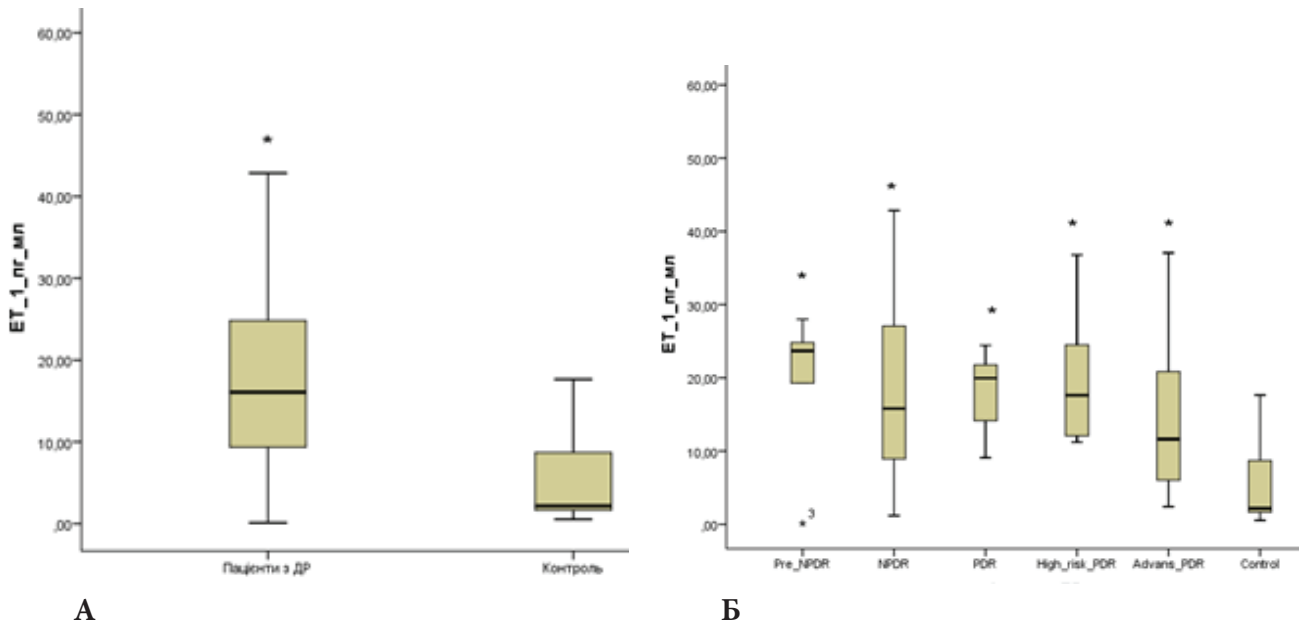


Рис. 1. Бокс-плот діаграма вмісту ендотеліну-1 у плазмі крові досліджуваних осіб. Розподіл груп пацієнтів з ДР за стадіями ретинопатії: Pre_NPDR – дуже м'яка НПДР, NPDR – помірно важка НПДР, PDR – ПДР High_risk_PDR – високого ризику ПДР, та Advans_PDR – Розвинена ПДР. Control – група контролю.

* – відмінність у порівнянні із значенням контрольної групи <0,05

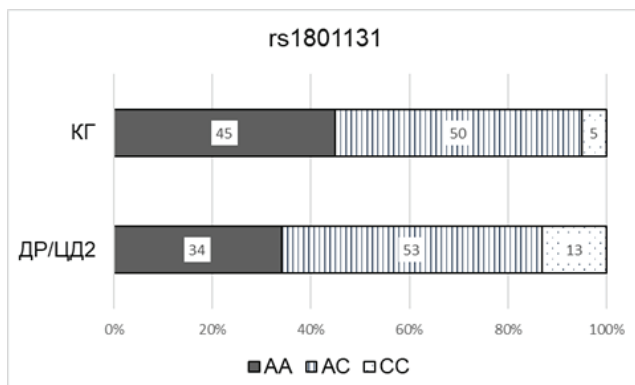
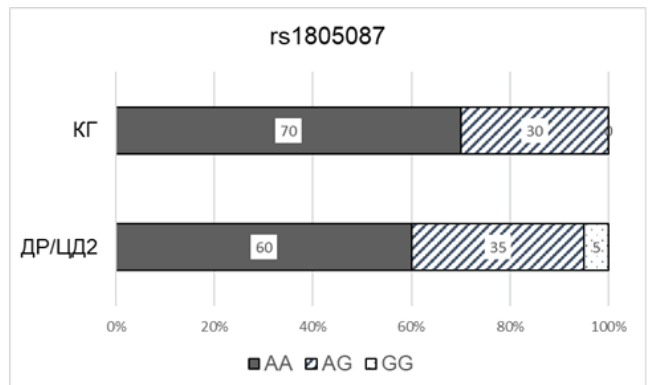
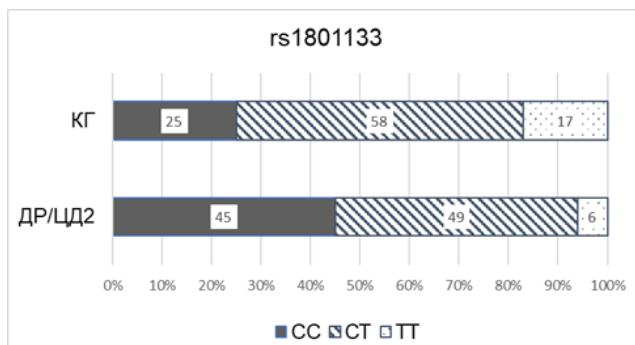


Рис. 2. Аналіз розподілу (%) частоти зустрічаємості алелей і генотипів генів MTHFR C677T (rs 1801133); MTR A2756G (rs 1805087); MTHFR A1298C (rs 1801131) у пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 та осіб контрольної групи

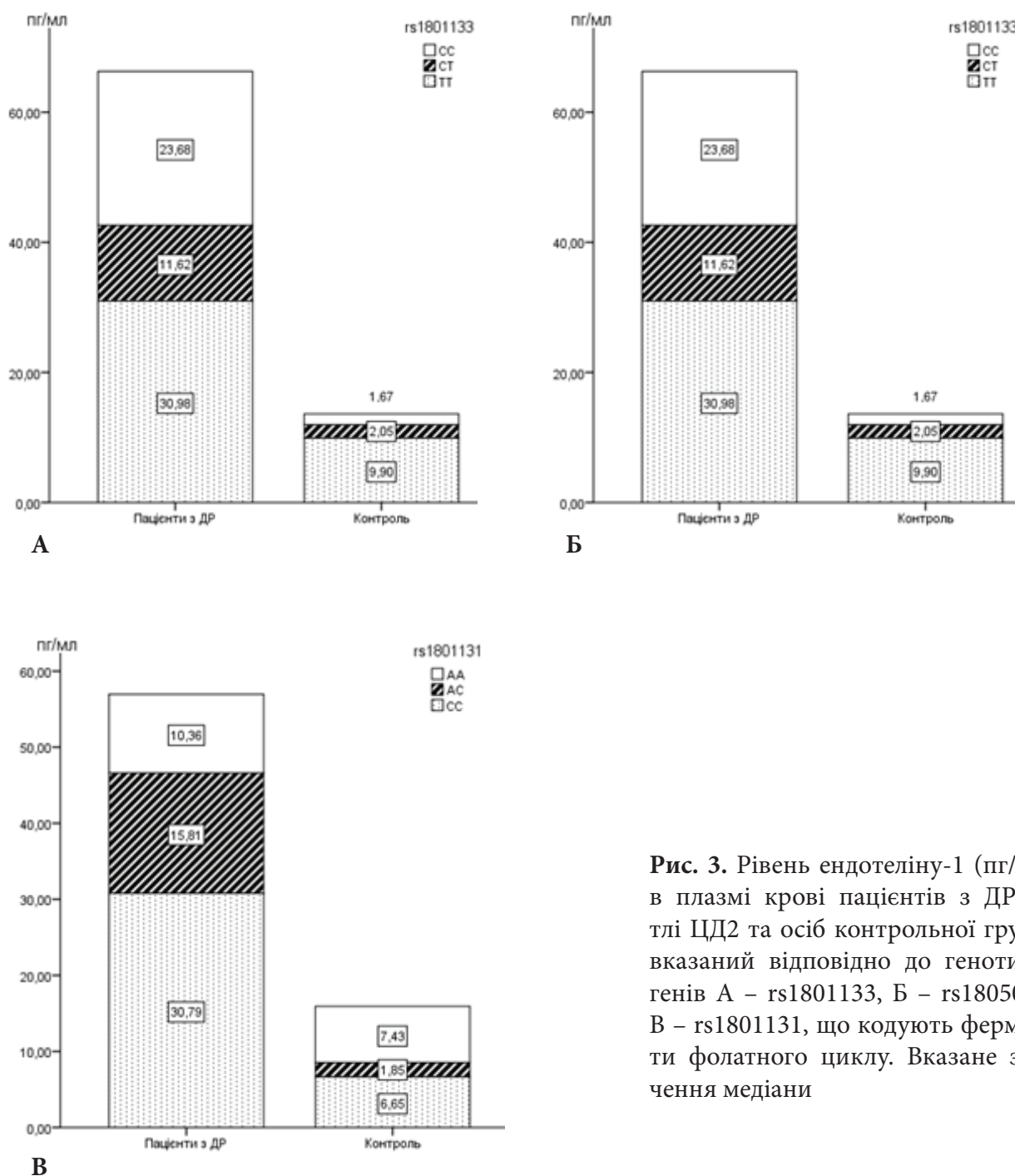


Рис. 3. Рівень ендотеліну-1 (пг/мл) в плазмі крові пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 та осіб контрольної групи, вказаний відповідно до генотипів генів А – rs1801133, Б – rs1805087, В – rs1801131, що кодують ферменти фолатного циклу. Вказане значення медіани

пі показник складав $9,90 \pm 1,65$ пг/мл, що було в 5-6 разів ($p < 0,05$) більше ніж у носіїв інших генотипів, СТ – $2,05 \pm 0,6$ та СС – $1,67 \pm 0,5$ пг/мл.

У групі пацієнтів представники цього генотипу ТТ також демонстрували найбільший вміст ЕТ-1, і він сягав $30,98 \pm 2,36$ пг/мл. Достовірно показник розрізнявся із таким лише у носіїв гетерозиготного генотипу СТ, у яких він був менше у 2,6 рази ($p < 0,05$) – $11,62 \pm 2,2$ пг/мл. При порівнянні вмісту ЕТ-1 серед здорових осіб та пацієнтів ми виявили, що у осіб

із найбільш розповсюдженим генотипом СТ показник розрізняється в 5 разів ($p < 0,05$). У носіїв мінорного генотипу ТТ різниця вмісту ЕТ-1 була в 3 рази ($p < 0,05$). У носіїв генотипу СС, який серед пацієнтів зустрічався майже у 2 рази частіше, вміст ЕТ-1 був у 14 разів вище ($p < 0,05$).

Аналіз поліморфізмів гену МТР А2756G (rs 1805087) показав, що мажорним є варіант АА генотипу, що зустрічався у 70% осіб. Серед пацієнтів, носіїв АА генотипу було 60%, але

у 5% з'являвся мінорний варіант GG. Носіїв AG поліморфізму була однакова частка серед пацієнтів та здорових осіб. Вміст ET-1 у здорових осіб суттєво розрізнявся в залежності від генотипу, і у носіїв AG був в 4 рази більше ніж у носіїв AA генотипу. У пацієнтів навпаки, не було різниці вмісту ET-1 серед носіїв AA та AG генотипу, а у осіб із мінорним варіантом GG вміст ET-1 був дуже високим і складав $21,27 \pm 5,6$ пг/мл, що було в 1,5 рази більше ніж у представників інших генотипів цього гену. Різниця ET-1 у пацієнтів та здорових осіб серед носіїв AA-генотипу складала 7 разів ($p < 0,05$), серед носіїв AG генотипу 2 рази ($p < 0,05$).

Аналіз поліморфізмів гену MTHFR A1298C (rs 1801131) у порівнянні із вмістом ET-1 виявив, що здорових представників мажорного гетерозиготного варіанту AC вміст ET-1 був найменшим і складав $1,85 \pm 0,21$ пг/мл, що 3,5-4 рази менше ніж у осіб із іншими варіантами гену: AA – $7,43 \pm 2,03$ пг/мл та CC – $6,65 \pm 0,25$ пг/мл.

Серед пацієнтів найменший рівень ET-1 мали представники AA варіанту, він був $10,36 \pm 1,23$ пг/мл. Це було в 1,5 рази менше ($p < 0,05$) ніж у носіїв AC поліморфізму, та в 3 рази меншим ($p < 0,05$) ніж у носіїв генотипу CC.

Між пацієнтами та здоровими особами виявили найменшу різницю у носіїв AA варіанту, яка складала 1,4 рази ($p < 0,05$). У носіїв AC генотипу різниця складала 8 разів ($p < 0,05$), у носіїв CC генотипу – 5 разів ($p < 0,05$).

При вивченні асоціацій основних біохімічних показників вуглеводного та ліпідного обмінів із поліморфними варіантами генів фолатного циклу ми не виявили асоціацій із різними генотипами генів та показниками глюкози, глікованого гемоглобіну, холестерину, ЛПНЩ, ЛПВЩ, тригліцеридів, АЛТ, АСТ. На рис.4 демонструємо вибіркові дані проведеного аналізу.

Роль ET-1 в розвитку ендотеліальної дисфункції та ушкодження сітківки сьогодні вже чітко визначена, оскільки доведено, що ET-1 є сильним судинозвужувальним засобом з мітогенними, прооксидантними та прозапальними властивостями, які мають велике значення в регуляції судинної функції, особливо в патофі-

зіології діабетичної васкулопатії [10]. Відомо, що надекспресія ET-1 обґрунтовує посилені ефекти, які визначають основні ушкодження судин при ЦД. Величезна кількість джерел присвячена пошуку асоціацій поліморфізмів генів з розвитком ЦД та ДР [11,12]. В тому числі доведена роль поліморфізмів генів ендотелінових рецепторів, які мають зв'язок з розвитком ЦД2: для rs6842241 гена EDNRA підвищення ризику було асоційовано з мінорною алеллю А; для rs5351 гена EDNRB – з предковою алеллю С. Наявність цих алелей сприяло достеменно більш високому вмісту у крові ET1 та більший вираженості ендотеліальної дисфункції [13].

Стимулами для утворення і секреції ET-1 є гіпоксія, ангіотензин II (АТ II), тромбін, гіперхолестеринемія, ліпопротеїди низької щільності, гіперглікемія, кортизол [8]. Наша нульова гіпотеза полягала в тому, що генетично обумовлений дефіцит ферментів фолатного циклу призводить не лише до гіпергомоцистеїнемії та ряду біохімічних порушень, а й підвищення ET-1. Вивчення асоціації вмісту ET-1 у осіб з поліморфізмами генів ферментів фолатного циклу може визначити цей пептид не лише маркером ендотеліального запалення, а й підґрунтям персоніфікованого таргетного патогенетичного лікування ДР та її профілактики.

За нашими попередніми даними [14] для гену MTHFR (677C/T, rs1801133) мажорним є гетерозиготний поліморфізм СТ, який визначається в контролі у 58% осіб. Розвиток ДР супроводжувався перерозподілом носіїв генотипів: у пацієнтів ми спостерігали зменшення частки носіїв СТ і збільшення в 1,8 разів осіб із генотипом CC відносно контролю. Отже, ми припустили, що наявність поліморфізму СТ є фактором утримання розвитку ЦД2. А генотип CC можна розглядати як фактор ризику розвитку ДР. Отримані в наведеній роботі дані підтверджують це припущення, оскільки у носіїв СТ поліморфізму ми спостерігали найменший вміст ET-1, а у носіїв генотипу CC розвиток ДР супроводжувався максимальним 14-ти кратним збільшенням ET-1.

Мінорний генотип GG гену MTR A2756G (rs1805087) ми виявили лише у пацієнтів на ДР, але в них був максимальний вміст гомо-

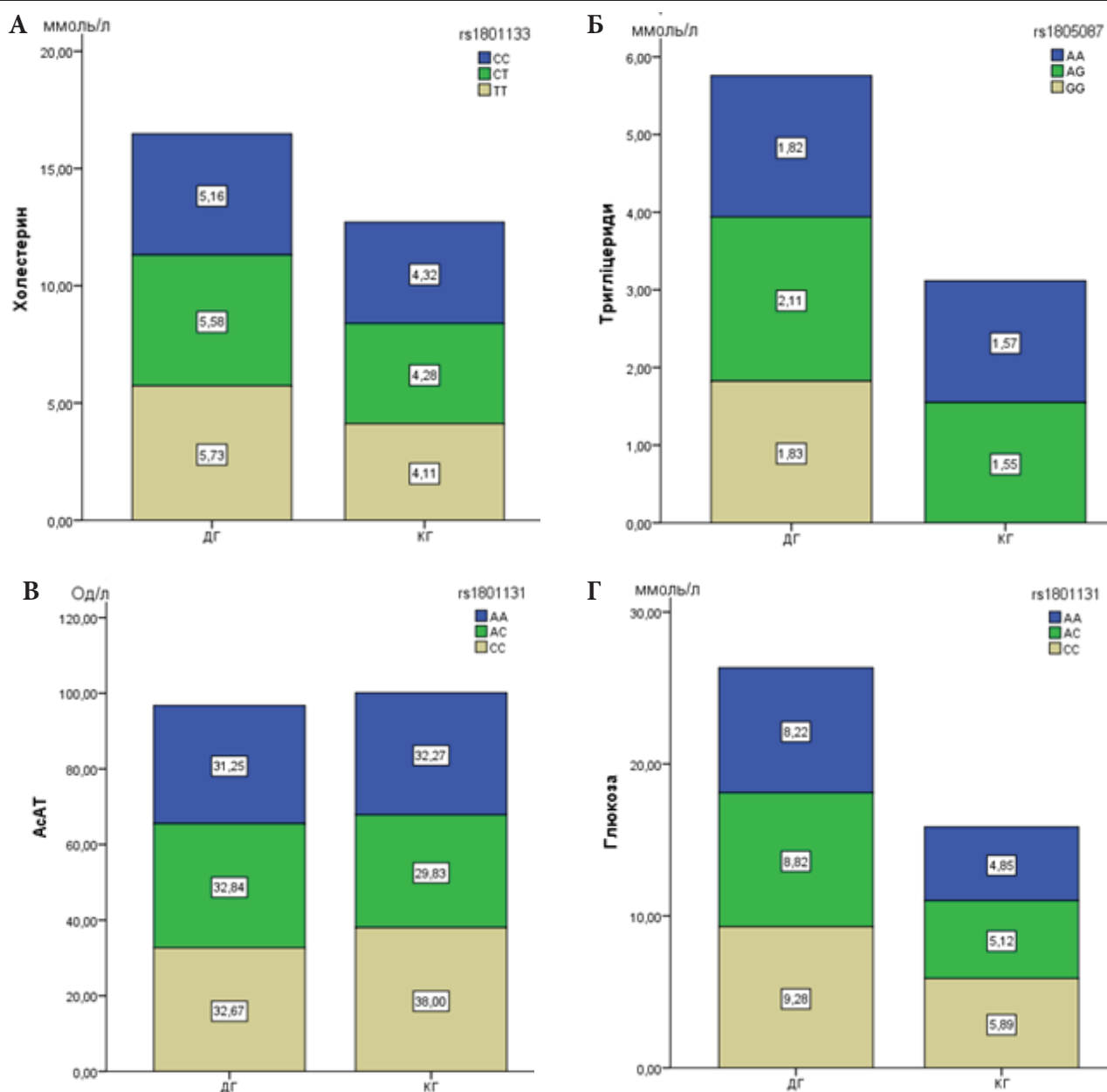


Рис. 4. Рівень біохімічних показників А- холестерину, Б- тригліцеридів, В – АсАТ, Г- глюкози в сироватці крові пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 та осіб контрольної групи, вказаний відповідно до генотипів генів rs1801133, rs1805087, rs1801131, що кодують ферменти фолатного циклу.
Вказане середнє значення

цистеїну [14]. В даному дослідженні у цих осіб зареєстрований надекспресія ЕТ-1, що також визначає вказаний генотип як можливий фактор ризику ДР.

Максимальний вміст гомоцистеїну ми виявили у носіїв поліморфізму АС гену МТНFR А1298С (rs1801131) [14]. В цих осіб також було 8-и кратне збільшення ЕТ-1 при розвитку ДР. Генотип АА визначили як протекторний, оскільки у пацієнтів він зустрічався в 1,3 рази

рідше і вміст ЕТ-1 у цих осіб був найменшим і при розвитку ДР практично не змінювався. Проте мінорний генотип СС у пацієнтів зустрічався у двічі частіше, а вміст ЕТ-1 зростав в 5 разів.

Отже, проведені спостереження у більшості підтвердили наші попередні припущення про можливу роль різних генотипів вказаних генів на розвиток ДР як через механізм накопичення гомоцистеїну, так і на вміст ЕТ-1, як важли-

вих факторів розвитку ДР на тлі ЦД2. Однак, висловлюватися про прямий зв'язок генотипів із вказаними фенотипічними ознаками ми будемо із обережністю, через досить малу кількість та вибірку пацієнтів, що є суттєвим обмеженням. Вважаємо доцільним продовжити аналізувати можливі зв'язки факторів ризику ДР, оскільки це відкриває нові горизонти у поглядах на ланки патогенезу ретинопатії на тлі ЦД2 [15].

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

ВИСНОВКИ

1. Потенційними факторами ризику розвитку ДР на тлі ЦД 2 можна вважати генотип CC гену rs1801133, генотип GG гену rs1805087, поліморфізм AC та генотип CC гену rs1801131.
2. Генотип CC гену rs1801133 супроводжувався максимальним 14-ти кратним збільшенням ET-1 у пацієнтів з ДР. Мінорний генотип GG гену rs1805087 зустрічався тільки у пацієнтів з ДР, і характеризувався максимальним вмістом ET-1. У носіїв поліморфізму AC гену rs1801131 виявили 8-и кратне збільшення ET-1 при розвитку ДР. Мінорний генотип CC цього гену у пацієнтів зустрічався у двічі частіше, і вміст ET-1 із розвитком ДР зростав в 5 разів.
3. Можна вважати факторами утримання розвитку ДР наявність поліморфізму CT гену rs1801133 та генотипу AA rs1801131. Поліморфізм CT гену rs1801133 супроводжувався найменшим вмістом ET-1. Генотип AA гену rs1801131 зустрічався в 1,3 рази рідше, вміст ET-1 у цих осіб був найменшим і при розвитку ДР практично не змінювався.

REFERENCES

1. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*. 2010;376:124–136. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)62124-3
2. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, et al. . Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: Systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* (2021) 128(11):1580–91. DOI: 10.1016/j.ophtha.2021.04.027
3. Whitehead M, Wickremasinghe S, Osborne A, Van Wijngaarden P, Martin KR. Diabetic retinopathy: a complex pathophysiology requiring novel therapeutic strategies. *Expert Opin Biol Ther*. 2018 Dec;18(12):1257–1270. DOI: 10.1080/14712598.2018.1545836
4. Tarr JM, Kaul K, Chopra M, Kohner EM, Chibber R. Pathophysiology of diabetic retinopathy. *ISRN Ophthalmol*. 2013;2013:343560. DOI: 10.1155/2013/343560.
5. Kang HM, Hasanuzzaman M, Kim SW, Koh HJ, Lee SC (2022) Elevated aqueous endothelin-1 concentrations in advanced diabetic retinopathy. *PLoS ONE* 17(5): e0268353. DOI: 10.1371/journal.pone.0268353
6. Sirman, Y., Savytskyi, I., & Preys, N. (2021). Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. *International journal of endocrinology (Ukraine)*, 17(1), 76–80. DOI: 10.22141/2224-0721.17.1.2021.226435
7. Mogilevskyy SIu, Panchenko IuO, Ziablitsev SV. New risk factors for post-surgical recurrent diabetic maculopathy in type 2 diabetes mellitus. *J.ophtalmol.(Ukraine)*.2019;5:9-17. DOI: 10.31288/oftalmolzh20195917
8. Penishkevich Ya.I., Kuchuk O.P., Kuzyo O.O. The role of endothelin-1 in the pathogenesis of the development of diabetic retinopathy. *Clinical anatomy and operative surgery – T. 15, № 2 – 2016. C. 114-116.*
9. Tawfik A, Mohamed R, Elsherbiny N et al. Homocysteine: A Potential Biomarker for Diabetic Retinopathy. *Journal of clinical medicine*, 2019, 8(1), 121. DOI: 10.3390/jcm8010121

10. Sorrentino FS, Matteini S, Bonifazzi C, Sebastiani A, Parmeggiani F. Diabetic retinopathy and endothelin system: microangiopathy versus endothelial dysfunction. *Eye (Lond)*. 2018 Jul;32(7):1157-1163. DOI: 10.1038/s41433-018-0032-4
11. Wang N, Ding L, Liu D, Zhang Q, Zheng G, Xia X, Xiong S. Molecular investigation of candidate genes for pyroptosis-induced inflammation in diabetic retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Jul 25;13:918605. DOI: 10.3389/fendo.2022.918605
12. Mogilevskyy S. Yu., Panchenko YuO, Ziablytsev S.V. Correlation of serum endothelin-1 with relapses of surgical treatment of diabetic maculopathy in type 2 diabetes mellitus. *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*. No. 3 (2019) DOI: 10.30978/CEES-2019-3-34
13. Ziablytsev S.V., Chernobrytsev O.P., Ziablytsev D.S., Starodubskaya O.O., Abdriakhimova Ts.B. Pathogenetic Role Of Endotelin-1 And Polymorphism Of Its Receptors In Diabetes Mellitus Type 2. *Fiziol. Zh.* 2019; 65(2): 22-30. DOI: 10.15407/fz65.02.022
14. Rykov SO, Prokopenko IuV, Natrus LV, Panchenko YuO. Role of polymorphisms of folate-cycle enzymes in diabetic retinopathy progression in patients with type 2 diabetic mellitus. *J.ophthalmol.(Ukraine)*.2022;5:3-11. DOI: 10.31288/oftalmolzh20225311
15. Amoaku WM, Ghanchi F, Bailey C, Banerjee S, Banerjee S, Downey L, et al. . Diabetic retinopathy and diabetic macular oedema pathways and management: Uk consensus working group. *Eye (Lond)* (2020) 34(Suppl 1):1–51. DOI: 10.1038/s41433-020-0961-6

Article history:

Received: 17.07.2023

Revision requested: 23.07.2023

Revision received: 09.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

THE CONTENT OF ENDOTHELIN-1 IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH DIABETIC RETINOPATHY ON THE BACKGROUND OF TYPE 2 DIABETES DEPENDING ON THE POLYMORPHIC VARIANTS OF THE MTHFR, MTRR AND MTR GENES

Rykov S.O., Prokopenko Yu.V.

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

yuliaprokopenko1986@gmail.com

Background. The vascular and extravascular microcirculation of the eye is a rich source of endothelin-1 (ET-1), which can contribute to abnormal retinal hemodynamics in diabetic retinopathy. In patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), an increase in the level of circulating ET-1 was found, and a positive correlation between its levels in the blood was found and degree of microangiopathy. Strengthens the development of endothelial dysfunction and microvascular complications, a high level of homocysteine, which occurs due to a genetically determined deficiency of enzymes of the folate cycle, determines in the body what, because homocysteine causes a violation of the structure of endothelial cells.

Aim: to study the ET-1 content in the blood plasma of patients with diabetic retinopathy against the background of type 2 diabetes, depending on the polymorphic variants of the MTHFR, MTRR and MTR genes, as an important pathogenetic pathway for the development of endothelial dysfunction.

Materials and methods. The study included 83 patients (83 eyes) with T2DM, in whom non-proliferative and proliferative DR were found according to the results of an ophthalmological examination using the ETDRS scale. The control group (CG) included 35 people without diabetes, who were matched with patients by gender, age, and body mass index. Gene polymorphism was determined using real-time PCR on the automatic amplifier Gene Amp® PCR System 7500, the content of ET-1 was determined in blood plasma by the ELISA method.

Conclusion. The SS genotype of the rs1801133 gene, the GG genotype of the rs1805087 gene, the AS polymorphism, and the SS genotype of the rs1801131 gene can be considered potential risk factors for the development of DR on the background of type 2 diabetes.

The SS genotype of the rs1801133 gene was accompanied by a maximum 14-fold increase in ET-1 in patients with DR. The minor GG genotype of the rs1805087 gene was found only in patients with DR, and was characterized by the maximum content of ET-1. In the carriers of AS polymorphism of the rs1801131 gene, an 8-fold increase in ET-1 was found during the development of DR.

The minor GG genotype of the rs1805087 gene was found only in patients with DR, and was characterized by the maximum content of ET-1. In the carriers of AS polymorphism of the rs1801131 gene, an 8-fold increase in ET-1 was found during the development of DR. The minor SS genotype of this gene was twice as common in patients, and the ET-1 content increased 5 times with the development of DR.

The presence of ST polymorphism of the rs1801133 gene and the AA genotype of rs1801131 are probably factors that prevent the development of DR. The ST gene rs1801133 polymorphism was accompanied by the lowest ET-1 content. The AA genotype of the rs1801131 gene was 1.3 times less frequent, the ET-1 content in these individuals was the lowest and practically did not change during the development of DR.

Key words: diabetic retinopathy, type 2 diabetes, biochemical indicators, genotype, endothelial dysfunction

ФАКТОРИ РИЗИКУ ТЯЖКОГО ПЕРИТОНИТУ У ХІРУРГІЧНИХ ПАЦІЄНТІВ

Кароль І.В. <https://orcid.org/0000-0003-3684-0127>
Біляєва О.О. <https://orcid.org/0000-0003-2862-0423>

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

drkarol@ukr.net

Актуальність. Кардинальні зміни у клінічній практиці разом із впровадженням нових хірургічних втручань та концепції прецизійної медицини обґрунтовують необхідність оновлення традиційних шкал оцінки стану пацієнтів з перитонітом.

Ціль: встановлення факторів ризику розвитку перитоніту у пацієнтів, яких було прооперовано з приводу гострих захворювань органів черевної порожнини.

Матеріали та методи. До дослідження залучено 139 пацієнтів, яких було прооперовано з приводу гострих захворювань органів черевної порожнини, серед яких 71 особа мали гострий апендицит, 51 – гострий холецистит, 10 – перфоративну виразку шлунку або дванадцятипалої кишки, інші – перфорацію пухлини або тонкої кишки, защемлену грижу, криптогенний перитоніт. Залежно від кількості балів за модифікованою шкалою APACHE II пацієнтів було розподілено на дві групи: 1-а група – 1-3 бали (63 особи, 45,3%) і 2-а група – 4 і більше балів (76 осіб, 54,7%). Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням програми EZR v.1.54 (graphical user interface for R statistical software version 4.0.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Результати. Порівняння груп дослідження показало, що тяжчий перебіг перитоніту був частіше у чоловіків, мав більшу поширеність, фібринозний і гнійний характер ексудату та частіше знаходився у токсичній стадії. Пацієнти 2-ї групи були на 6,5 років старші ($p=0,029$), довше знаходилися у стаціонарі (на 2 дні; $p=0,002$) та мали більшу тривалість операції (на 25 хвилин; $p<0,001$), більшу температуру тіла при госпіталізації (на $0,40^{\circ}\text{C}$; $p=0,008$), яка нормалізувалася на один день пізніше ($p<0,001$), а також – менший протромбіновий індекс (ПТІ) при більших значеннях міжнародного нормалізованого відношення (МНВ) та протромбінового часу ($p<0,05$), більший лейкоцитоз ($p<0,001$) та швидкість осідання еритроцитів ($p=0,042$) у порівнянні з пацієнтами першої групи. У однофакторному аналізі було підтверджено позитивний вплив на ризик тяжкого перитоніту віку, чоловічої статі, температури тіла, частоти пульсу, МНВ та лейкоцитозу і негативний вплив величини ПТІ.

Висновок. Виявлені такі фактори ризику тяжкого перитоніту: чоловіча стать і вік, вища температура при госпіталізації та пульс, більші ПТІ та МНВ, а також більший лейкоцитоз.

Ключові слова: перитоніт, вік, чоловіча стать, температура тіла, пульс, протромбіновий індекс, лейкоцитоз.

Актуальність. Перитоніт є одним з найтяжчих ускладнень гострих захворювань органів черевної порожнини [1]. Летальність при перитоніті з розвитком абдомінального сепсису та поліорганної недостатності становить від 19% до 80% [2, 3]. Однією з причин високої смертності є те, що перитоніт впливає на загальний стан і призводить до ускладнень у вигляді поліорганної недостатності, ниркової недостатності, сепсису та недостатності зовнішнього дихання [3, 4].

Складний патогенез перитоніту обумовлює розвиток багатьох симптомів, зокрема, біль у черевній порожнині, гостре запалення із вираженою схильністю до генералізації, порушення діяльності шлунково-кишкового тракту та травних залоз, парез кишечника, порушення кислотно-основного та водно-електролітного обміну, системну інтоксикацію, пригнічення імунної системи та поліорганну недостатність [5]. Доведена роль таких факторів ризику перитоніту як вік, ниркова недостатність, цукро-

вий діабет, панкреатит та гнійний характер ексудату, особливо за наявності *Klebsiella spp.* [6].

Для прогнозування результату перитоніту та визначення лікувальної тактики на даний час широко застосовуються шкали розрахунку індивідуального ризику, зокрема, Мангеймський індекс перитоніту (MPI) [7, 8], шкали оцінки тяжкості стану пацієнта (SAPS II and APACHE II) [9], оцінка поліорганної дисфункції (SOFA) [10] та інші.

Ці шкали були розроблені понад 25 років тому з метою широкого впровадження швидкої оцінки стану пацієнта та ризику ускладнень у пацієнтів в критичних станах [11]. Враховуючи кардинальні зміни у клінічній практиці за останні кілька десятиліть, впровадження нових втручань та математичних методів обробки даних з побудовою комп'ютерних експертних систем, що орієнтовані на індивідуальний моніторинг стану пацієнту, на сьогодні існує об'єктивна необхідність розширення та оновлення таких шкал на підставі концепції прецизійної медицини [12].

Ціль: встановлення факторів ризику розвитку перитоніту у пацієнтів, яких було прооперовано з приводу гострих захворювань органів черевної порожнини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До дослідження залучено 139 пацієнтів, яких було прооперовано з приводу гострих захворювань органів черевної порожнини, серед яких 71 особа мали гострий апендицит, 51 – гострий холецистит, 10 – перфоративну виразку шлунку або дванадцятипалої кишки, 4 – перфорацію пухлини, 1 – перфорацію тонкої кишки, 1 – защемлену грижу, 1 – криптогенний перитоніт. Залежно від кількості балів за модифікованою нами шкалою APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) [13] пацієнтів було розподілено на дві групи: 1-а група – 1-3 бали (63 особи, 45,3%) і 2-а група – 4 і більше балів (76 осіб, 54,7%). При проведенні дослідження дотримувалися Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення медичних наукових досліджень за участю людини (2000 р.).

Під час операції визначали поширеність перитоніту (місцевий, дифузний, розлитий або загальний), характер ексудату (серозний, серозно-фібринозний, фібринозно-гнійний, гнійний, каловий або геморагічний), стадію перитоніту (реактивна, токсична або термінальна). У пацієнтів фіксували вік, стать, кількість ліжко-днів, тривалість захворювання (год.), тривалість операції (хв.), температуру при госпіталізації, добу нормалізації температури. На момент поступлення до стаціонару вимірювали систолічний (САТ) та діастолічний (ДАТ) артеріальний тиск (мм рт. ст.), частоту пульсу та дихання за 1 хвилину. У крові біохімічними лабораторними методами визначали протромбіновий індекс (ПТІ, %), міжнародне нормалізоване відношення (МНВ, ум. од.), протромбіновий час (ПЧ, хв.), активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ, сек.), активність аланінамінотрансферази (АЛТ, Од/л) і аспартатамінотрансферази (АСТ, Од/л), вміст фібриногену (г/л), білірубину (мкмоль/л), креатиніну (мкмоль/л), сечовини (мкмоль/л), білку (г/л), глюкози (ммоль/л), гемоглобіну (г/л), а також кількість еритроцитів (Т/л), лейкоцитів (Г/л), тромбоцитів (Г/л) і швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ, мм/год.).

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням програми EZR v.1.54 (graphical user interface for R statistical software version 4.0.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [14, 15]. Для перевірки розподілу кількісних показників на нормальність використано критерій Шапіро-Уїлка, при дотриманні нормального закону розподілу даних використано середні та їх стандартні відхилення ($M \pm SD$), якщо закон розподілу відрізнявся від нормального розраховували медіану (Me) та перший і третій квартилі ($Q1-Q3$), для порівняння вибірок – критерій Стюдента і Манна-Уїтні, відповідно. Вплив чинників на ризик перитоніту оцінювали у однофакторному регресійному аналізі з розрахунком бета-коефіцієнтів моделі, відношення шансів (ВШ) та 95% вірогідних інтервалів (ВІ), а також рівня значущості відмінності ВШ від 1 (р). У всіх випадках статистичного оцінювання значення $p < 0,05$ вважали вірогідними.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Характеристика клінічних показників наведена на рис. 1. Розподіл за статтю у групах мав статистично значущу відмінність ($p=0,010$): у 1-й групі суттєво переважали жінки (65,1%), у 2-й – чоловіки (57,9%). Це давало підставу для припущення, що чоловіча стать була фактором ризику розвитку тяжкого перитоніту.

За поширеністю у обох групах переважав місцевий перитоніт: його мали 93,7% пацієнтів у 1-й групі і 55,3% – у 2-й. При цьому виявлялася достеменна тенденція до збільшення ускладнених форм перитоніту (дифузного, розлитого та загального) у 2-й групі ($p<0,001$).

За характером ексудату перитоніт у 1-й групі був серозним (84,1%) або серозно-фібринозним (14,3%). У 2-й групі переважав серозно-фібринозний (32,9%), фібринозно-гнійний

(23,7%) та гнійний (25,0%) характер ексудату.

У пацієнтів 1-ї групи були діагновані реактивна (61,9%) або токсична (38,1%) стадія перитоніту, тоді як пацієнти 2-ї групи мали переважно токсичну (69,7%) стадію, а 7,9% мали термінальну стадію перитоніту.

Таким чином, порівняння дослідних груп показало, що тяжкий перитоніт частіше виявлявся у чоловіків, мав більшу поширеність, фібринозний і гнійний характер ексудату та частіше знаходився у токсичній стадії.

Порівняння клініко-лабораторних показників, що було визначено у групах пацієнтів, показало статистично значущі відмінності для деяких з них (табл. 1).

Пацієнти 2-ї групи були старшого віку – на 6,5 років старше ніж пацієнти 1-ї групи ($p=0,029$), довше знаходилися у стаціонарі – на 2 дні за кількістю ліжко-днів ($p=0,002$) та мали

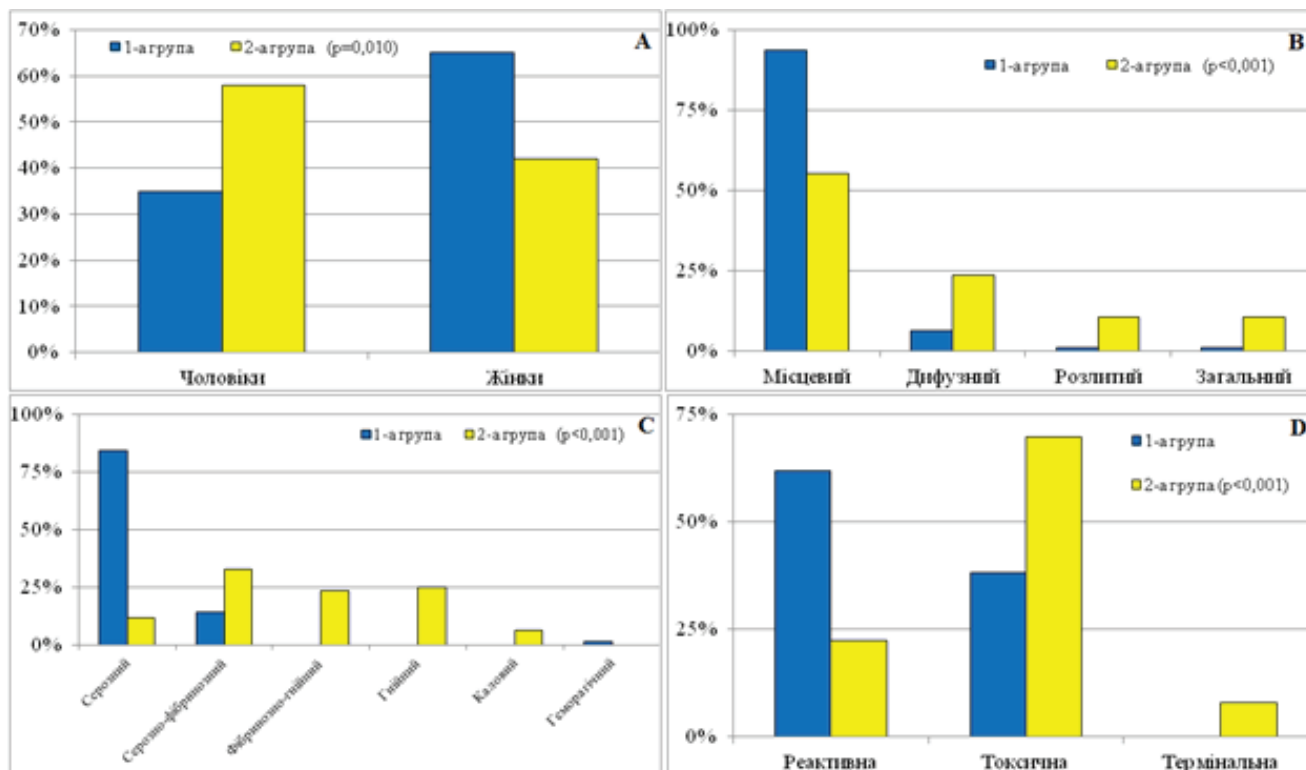


Рис. 1. Характеристика груп досліджень за статтю, поширеністю перитоніту, характером ексудату та стадією процесу

Порівняння показників у групах дослідження

Показник	1-а група, (n=63)	2-а група, (n=76)	p
Вік, років	42 (29,25 – 57,5)	48,5 (36 – 62,5)	0,029
Кількість ліжко-днів	7 (7 – 8)	9 (7 – 10,5)	0,002
Тривалість захворювання, год.	48 (15,25 – 48)	48 (23 – 84)	0,353
Тривалість операції, хв.	60 (50 – 80)	85 (60 – 130)	<0,001
Температура при госпіталізації, °C	37,1 (37 – 37,475)	37,5 (37 – 37,8)	0,008
Нормалізація температури, доба	3 (2,25 – 4)	4 (3 – 6)	<0,001
САТ, мм рт. ст.	130 (120 – 130)	130 (120 – 135)	0,086
ДАТ, мм рт. ст.	80 (70 – 80)	80 (70 – 80)	0,157
Пульс, уд./хв.	80 (75 – 81,5)	81 (75,5 – 85)	0,004
Частота дихання, за хв.	18 (17 – 21)	19 (16,5 – 21)	0,73
ПТІ, %	102,3±18	88,1±16,7	0,005
МНВ, ум. од.	0,99 (0,945 – 1,058)	1,08 (1,048 – 1,163)	0,002
ПЧ, хв.	10,6 (10,3 – 11,4)	12 (11,4 – 13,3)	0,004
АЧТЧ, сек.	25,3±2,7	28,1±4,2	0,115
Фібриноген, г/л	4,3 (4,075 – 5,752)	4,3 (4,3 – 5,125)	0,816
Білірубін, мколь/л	10,13 (7,6 – 13,6)	11,9 (8,525 – 17,255)	0,454
АЛТ, Од/л	32,15 (14 – 50)	21,9 (15,950 – 44)	0,637
АСТ, Од/л	24,7 (15,825 – 37,7)	27,6 (17,275 – 47,4)	0,634
Креатинин, мкмоль/л	66,5 (57,5 – 81,25)	73,5 (59 – 89,7)	0,232
Сечовина, мкмоль/л	4,6 (3,275 – 7,250)	4,78 (3,6 – 5,9)	0,959
Білок, г/л	70,3 (66,9 – 75,450)	65,85 (59,5 – 71,8)	0,046
Глюкоза, ммоль/л	5,66 (5,117 – 6,152)	5,74 (5,122 – 7,552)	0,448
Гемоглобін, г/л	138 (130 – 150,5)	141,5 (133 – 153)	0,232
Еритроцити, Т/л	4,68 (4,312 – 5,1)	4,795 (4,57 – 5,165)	0,083
Лейкоцити, Г/л	8,25 (6,4 – 12,675)	14,5 (11,1 – 17,45)	<0,001
Тромбоцити, Г/л	257 (215 – 293,5)	276,5 (218,5 – 343)	0,095
ШОЕ, мм/год.	11 (5 – 28,5)	33 (24,5 – 39,250)	0,042

Примітки:

САС – систолічний артеріальний тиск; ДАТ – діастолічний артеріальний тиск; у випадку нормального закону розподілу розраховано середнє значення (М) та стандартне відхилення ($\pm SD$), для порівняння використано критерій Ст'юдента; у випадку закону розподілу відмінного від нормального розраховано медіану (Me) та міжквартильний інтервал ($Q_I - Q_{III}$), для порівняння використано критерій Манна-Уїтні.

більшу тривалість операції – на 25 хвилин ($p < 0,001$). Також вони мали більшу температуру тіла при госпіталізації – на 0,4°C ($p = 0,008$), при цьому температура нормалізувалася на один день пізніше ($p < 0,001$). За показника-

ми артеріального тиску та частоти дихання пацієнти обох груп не відрізнялися ($p > 0,08$), тоді як пульс був вищим у пацієнтів 2-ї групи ($p = 0,004$).

У коагулограмі звертав увагу менший по-

казник ПТІ у пацієнтів 2-ї групи при більших значеннях МНВ та ПЧ ($p<0,05$), що вказувало на наявність в них коагулопатії зі схильністю до геморагічного синдрому. Інші показники, зокрема фібриноген, по групах не відрізнялися. Також не було різниці за показниками білірубину, АЛТ, АСТ, креатиніну, сечовини та глюкози ($p>0,2$).

Відмічено менший вміст білку у крові пацієнтів 2-ї групи – на 4,45 г/л ($p=0,046$). Також такі пацієнти мали більший лейкоцитоз ($p<0,001$) та ШОЕ ($p=0,042$).

В цілому отримані розбіжності вказували на погіршення загального стану та виснаження систем організму у пацієнтів 2-ї групи, що давало підставу вважати розвиток тяжкого перитоніту наслідком недостатності імунологічної резистентності.

Для виявлення математичної залежності тяжкості перитоніту від певних чинників та встановлення факторів ризику серед всіх вивчених показників був проведений однофакторний регресійний аналіз, значущі результати якого наведено у табл. 2.

При проведенні однофакторного аналізу виявлено більший ($p=0,008$) ризик тяжкого перебігу перитоніту для чоловіків (ВШ 2,56; 95% ВІ 1,29–5,11 у порівнянні із жінками). Виявлено

зростання ($p=0,031$) ризику тяжкого перитоніту з віком пацієнта (ВШ 1,02; 95% ВІ 1,00–1,05 на кожен рік). Ризик тяжкого перебігу перитоніту зростав ($p<0,05$) і при більш високих температурах при госпіталізації, частоті пульсу, рівнях МНВ та лейкоцитів (див. табл. 2).

Зниження ($p=0,009$) ризику виявлено при більш високому рівні ПТІ (ВШ 0,95; 95% ВІ 0,92–0,99 на кожному 0,1 Од зростання показника).

Таким чином були встановлені фактори ризику розвитку тяжкого перитоніту серед яких значення мали стать і вік, температура при госпіталізації та пульс, ПТІ і МНВ, а також лейкоцитоз.

Необхідно зазначити, що і в інших дослідженнях були отримані схожі результати. Так, порівняння оцінки за шкалою МРІ виходу перитоніту у 75 пацієнтів з цим діагнозом виявило такі фактори ризику, як вік старше 50 років, наявність злжкісних новоутворень та органної дисфункції [16].

За іншими даними в однофакторному аналізі фактори, які значною мірою пов'язані з погіршенням прогнозу перитоніту, включали похилий вік, місце первинної операції, відсутність прозорості черевної порожнини, генералізований перитоніт і високий бал МРІ [17].

Таблиця 2

Аналіз однофакторних моделей логістичної регресії прогнозування ризику тяжкого перебігу перитоніту

Факторна ознака		Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності ВШ від 1, p	Показник відношення шансів моделі, ВШ (95% ВІ)
Стать	Жін.	Референтний		
	Чол.	0,94 $\pm$ 0,35	0,008	2,56 (1,29–5,11)
Вік (на кожен рік)		0,024 $\pm$ 0,011	0,031	1,02 (1,00 – 1,05)
Температура при госпіталізації (на 1°C)		0,67 $\pm$ 0,33	0,042	1,97 (1,03–3,79)
Пульс (на 1 уд. за хв.)		0,068 $\pm$ 0,023	0,003	1,07 (1,02–1,12)
ПТІ (на кожен %)		-0,046 $\pm$ 0,018	0,009	0,95 (0,92–0,99)
МНВ (на 0,1 Од)		1,07 $\pm$ 0,44	0,014	2,94 (1,24–6,96)
Лейкоцити (на кожному одиницю Г/л)		0,17 $\pm$ 0,04	<0,001	1,19 (1,10–1,29)

Патологія крові гарно віддзеркалює розвиток перитоніту, зокрема, лейкоцитоз, а також співвідношення кількості у крові нейтрофілів до лімфоцитів (NLR), тромбоцитів до лімфоцитів (PLR) та моноцитів до лімфоцитів (MLR) добре диференціюють неускладнений перитоніт апендицит від ускладненого [18]. У наших дослідженнях лейкоцитоз був незалежним фактором ризику тяжкого перитоніту, адже ж результати наведеного дослідження показують перспективність визначення співвідношень клітин крові. Крім того у цьому дослідженні, як і у нашому, було визначено частіший розвиток перитоніту у чоловіків.

Також чоловіча стать фігурувала як фактор ризику внутрішньочеревних абсцесів після лапароскопічної апендектомії при гострому апендициті [19].

Необхідно зазначити, що за шкалою MPI фактором ризику є жіноча стать (5 балів) [7], тоді як у наших дослідженнях тяжчі форми перитоніту розвивалися частіше у чоловіків. Такий результат вказував на наявність статевих особливостей перебігу перитоніту при гострому апендициті та холециститі.

Також за шкалою MPI обтяжуючим фактором є тривалість перитоніту більше 24 год. У наших дослідженнях групи пацієнтів за тривалістю захворювання не відрізнялися (див. табл. 1). На нашу думку це могло бути пов'язане із швидким доставлянням пацієнта у лікарню та оперативним проведенням хірургічного втручання.

Значущість таких факторів як перитоніт і більша тривалість операції для підвищення ризику ускладнень була показана для пацієнтів старше 65 років, прооперованих з приводу гострого апендициту [20]. На думку авторів, пацієнти віком 80 років і старше мають вищий ризик ускладнень, незалежно від тих факторів, які пов'язані з підвищеною захворюваністю у молодших пацієнтів похилого віку.

Таким чином, проведене дослідження по виявленню факторів ризику тяжкого перитоніту мало свої особливості. Було показано, що такими факторами є чоловіча стать і вік, вищі температура при госпіталізації та пульс, більші ПТІ та МНВ, а також більший лейкоцитоз.

ВИСНОВКИ

1. Порівняння груп дослідження показало, що тяжчий перебіг перитоніту був частіше у чоловіків, мав більшу поширеність, фібринозний і гнійний характер ексудату та частіше знаходився у токсичній стадії.
2. Пацієнти другої групи були на 6,5 років старші ($p=0,029$), довше знаходилися у стаціонарі (на 2 дні; $p=0,002$) та мали більшу тривалість операції (на 25 хвилин; $p<0,001$), більшу температуру тіла при госпіталізації (на $0,40^{\circ}\text{C}$; $p=0,008$), яка нормалізувалася на один день пізніше ($p<0,001$), а також – менший ПТІ при більших значеннях МНВ та ПЧ ($p<0,05$), більший лейкоцитоз ($p<0,001$) та ШОЕ ($p=0,042$) у порівнянні з пацієнтами першої групи.
3. У однофакторному аналізі було підтверджено позитивний вплив на ризик тяжкого перитоніту віку, чоловічої статі, температури тіла, частоти пульсу, МНВ та лейкоцитозу і негативний вплив величини ПТІ.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Biliaieva OO, Kryzhevskiy VV, Karol IV. Prychyny nezadovolnykh rezultativ diahnozyky perytonitu na dohospitalnomu etapi. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*. 2021;4(144):1–4. DOI: 10.32471/umj.1680-3051.144.214004
2. Matviichuk OB. Stres yak faktor prohnozu rozvytku tretynnoho perytonitu. *Klinichna anatomiia ta operatyvna khirurgiia*. 2017;16(2):110–112. DOI: 10.24061/1727-0847.16.1.2017.57
3. Tolonen M, Sallinen V, Mentula P, Leppäniemi A. Preoperative prognostic factors for severe diffuse secondary peritonitis: a retrospective study. *Langenbecks Arch Surg*. 2016 Aug;401(5):611–7. DOI: 10.1007/s00423-016-1454-8
4. Sharma S, Singh S, Makkar N, Kumar A, Sand-

- hu MS. Assessment of Severity of Peritonitis Using Mannheim Peritonitis Index. *Niger J Surg*. 2016 Jul-Dec;22(2):118-122. DOI: 10.4103/1117-6806.189009
5. Spalding DR, Williamson RC. Peritonitis. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2008 Jan;69(1):M12-5. DOI: 10.12968/hmed.2008.69.Sup1.28050
 6. Montravers P, Esposito-Farèse M, Lasocki S, Grall N, Veber B, Eloy P, Seguin P, Weiss E, Dupont H; DURAPOP trial group. Risk factors for therapeutic failure in the management of post-operative peritonitis: a post hoc analysis of the DURAPOP trial. *J Antimicrob Chemother*. 2021 Nov 12;76(12):3303-3309. DOI: 10.1093/jac/dkab307
 7. Gueiros LDS, Fonseca CMD, Duarte NMDM, Antunes OS. Mannheim's peritonitis index in the prediction of postoperative outcome of peritonitis. *Rev Col Bras Cir*. 2022 Sep 2;49:e20222991. English, Portuguese. DOI: 10.1590/0100-6991e-20222991_en
 8. Sharma S, Singh S, Makkar N, Kumar A, Sandhu MS. Assessment of Severity of Peritonitis Using Mannheim Peritonitis Index. *Niger J Surg*. 2016 Jul-Dec;22(2):118-122. DOI: 10.4103/1117-6806.189009
 9. Godinjak A, Iglia A, Rama A, Tančica I, Jusufović S, Ajanović A, Kukuljac A. Predictive value of SAPS II and APACHE II scoring systems for patient outcome in a medical intensive care unit. *Acta Med Acad*. 2016 Nov;45(2):97-103. DOI: 10.5644/ama2006-124.165
 10. Lambden S, Laterre PF, Levy MM, Francois B. The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. *Crit Care*. 2019 Nov 27;23(1):374. DOI: 10.1186/s13054-019-2663-7
 11. Moreno R, Rhodes A, Piquilloud L, Hernandez G, Takala J, Gershengorn HB, Tavares M, Coopersmith CM, Myatra SN, Singer M, Rezende E, Prescott HC, Soares M, Timsit JF, de Lange DW, Jung C, De Waele JJ, Martin GS, Summers C, Azoulay E, Fujii T, McLean AS, Vincent JL. The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score: has the time come for an update? *Crit Care*. 2023 Jan 13;27(1):15. DOI: 10.1186/s13054-022-04290-9
 12. König IR, Fuchs O, Hansen G, von Mutius E, Kopp MV. What is precision medicine? *Eur Respir J*. 2017 Oct 19;50(4):1700391. DOI: 10.1183/13993003.00391-2017
 13. Biliaieva OO, Karol IV. Suchasni aspekty prohnozuvannia perebihu hostroho perytonitu. *Kharkivska khirurhichna shkola*. 2022; 1 (112): 65 – 70. DOI: 10.37699/2308-7005.1.2022.12
 14. Guryanov VG, Lyakh YuE, Pariy VD, Korotkyi OV, Chalyi OV, Chalyi KO, Tsekhmister YaV. Posibnyk z biostatystyky. Analiz rezultativ medychnykh doslidzhen u paketi EZR (R-statistics) [Handbook of Biostatistics. Analysis of the results of medical research in the package EZR (R-statistics)]. Kyiv: News. 2018: 208. Ukrainian.
 15. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Mar;48(3):452-8. DOI: 10.1038/bmt.2012.244.
 16. Gueiros LDS, Fonseca CMD, Duarte NMDM, Antunes OS. Mannheim's peritonitis index in the prediction of postoperative outcome of peritonitis. *Rev Col Bras Cir*. 2022 Sep 2;49:e20222991. English, Portuguese. DOI: 10.1590/0100-6991e-20222991_en
 17. Neri A, Fusario D, Marano L, Savelli V, Bartalini Cinughi de Pazzi A, Cassetti D, Roviello F, Marrelli D. Clinical evaluation of the Mannheim Prognostic Index in post-operative peritonitis: a prospective cohort study. *Updates Surg*. 2020 Dec;72(4):1159-1166. DOI: 10.1007/s13304-020-00831-5
 18. Halaseh SA, Kostalas M, Kopec CA, Nimer A. Single-Center Retrospective Analysis of Neutrophil, Monocyte, and Platelet to Lymphocyte Ratios as Predictors of Complicated Appendicitis. *Cureus*. 2022 Sep 14;14(9):e29177. DOI: 10.7759/cureus.29177
 19. Tartaglia D, Fatucchi LM, Mazzoni A, Miccoli M, Piccini L, Pucciarelli M, Di Saverio S, Coccolini F, Chiarugi M. Risk factors for intra-abdominal abscess following laparoscopic appendectomy for acute appendicitis: a retrospective cohort study on 2076 patients. *Updates Surg*. 2020 Dec;72(4):1175-1180. DOI: 10.1007/s13304-020-00749-y
 20. Fusario D, Neri A, Carbone L, Resca L, Marano L, Gassi G, Calomino N, Verre L, Roviello F, Marrelli D. The Emergency Surgery Frailty Index (EmSFI) in Elderly Patients with Acute Appendicitis: An External Validation of Prognostic Score. *World J Surg*. 2023 Jul;47(7):1713-1720. DOI: 10.1007/s00268-023-06975-w

Article history:

Received: 22.06.2023

Revision requested: 24.06.2023

Revision received: 02.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

RISK FACTORS OF SEVERE PERITONITIS IN SURGICAL PATIENTS

*Karol I.V., Bilyaeva O.O.**Shupyk National University of Health Care of Ukraine, Kyiv, Ukraine**drkarol@ukr.net*

Background. Radical changes in clinical practice along with the introduction of new surgical interventions and the new concept of precision medicine justify the need to update the traditional scales for assessing the condition of patients with peritonitis.

Aim: to establish risk factors for the development of peritonitis in patients who were operated on for acute diseases of the abdominal cavity.

Material and methods. The study involved 139 patients who were operated on for acute diseases of the abdominal cavity, among whom 71 had acute appendicitis, 51 had acute cholecystitis, 10 had a perforated stomach or duodenal ulcer, others had perforation of a tumor or small intestine, a pinched hernia, cryptogenic peritonitis. Depending on the number of points on the modified APACHE II scale, patients were divided into two groups: 1st group - 1-3 points (63 people, 45.3%) and 2nd group - 4 or more points (76 people, 54.7%). Statistical processing of the research results was carried out using the EZR v.1.54 program (graphical user interface for R statistical software version 4.0.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Results. Comparison of study groups showed that the more severe course of peritonitis was more common in men, had a greater prevalence, fibrous and purulent nature of the exudate, and was more often in the toxic stage. Patients of the second group were 6.5 years older ($p=0.029$), stayed longer in the hospital (by 2 days; $p=0.002$) and had a longer duration of surgery (by 25 minutes; $p<0.001$), a higher body temperature during hospitalization (by 0.4°C ; $p=0.008$), which normalized one day later ($p<0.001$), as well as a lower prothrombin index (PTI) with higher values of international normalized ratio (INR) and prothrombin time ($p<0.05$), higher leukocytosis ($p<0.001$) and erythrocyte sedimentation rate ($p=0.042$) in comparison with the patients of the first group. Univariate regression analysis confirmed a positive effect on the risk of severe peritonitis of age, male gender, body temperature, pulse rate, EMN, and leukocytosis, and a negative effect of PTI value.

Conclusion. The following risk factors for severe peritonitis were identified: male sex and age, higher temperature at hospitalization and heart rate, higher PTI and INR, as well as higher leukocytosis.

Key words: peritonitis, age, male sex, body temperature, pulse, prothrombin index, leukocytosis.

РОЛЬ Е-СЕЛЕКТИНУ В РОЗВИТКУ МАКУЛЯРНОГО НАБРЯКУ ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Чугаєв Д. І. <http://orcid.org/0000-0003-3911-5035>

Національний університет охорони здоров'я України, Київ, Україна

dchugaev@gmail.com

Актуальність. При цукровому діабеті 2 типу (ЦД2) частими ускладненнями є діабетична ретинопатія (ДР) та діабетичний макулярний набряк (ДМН). Впровадження їх ефективної діагностики та прогнозування шляхом виявлення нових біомаркерів є важливою задачею сучасної офтальмології.

Ціль: встановити роль Е-селектину у розвитку ДМН при ДР різного ступеню у пацієнтів з ЦД2 типу.

Матеріали та методи. Дослідження включало 124 пацієнта (124 ока) із ЦД 2 типу у яких за класифікацією ETDRS виявлена легка (29 очей, 1-а група), помірна або важка (35 очей, 2-а група) непроліферативна ДР та проліферативна ДР (31 око, 3-я група); контрольну групу склали 29 очей без ЦД. Всім пацієнтам були виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, спектрально-моментну оптичну когерентну томографію (ОКТ) з визначенням центральної товщини сітківки (ЦТС, мкм). ДМН встановлювали при збільшенні ЦТС більше значень нормативної бази даних по полях ETDRS програмного забезпечення спектрально-моментної ОКТ. Вміст Е-селектину у крові визначали імуноферментним методом (Invitrogen ThermoFisher Scientific, USA). Для статистичних досліджень використано програмні пакети MedStat і MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba).

Результати. Вміст у крові Е-селектину при ДР та ЦД2 був достеменно збільшеним при всіх стадіях ДР (у 1,2-1,3 рази; $p < 0,01$), з максимумом при проліферативній ДР, що прямо корелювало з показниками, які відображали глікемічний контроль (HbA1c), набряк сітківки (ЦТС) та погіршення гостроти зору. Вміст Е-селектину при розподілі пацієнтів за наявністю ДМН був вищим, ніж без такого (у 1,3 рази; $p < 0,001$), що зберігалося для всіх стадій ДР. Наявність патогенетичного зв'язку збільшення вмісту Е-селектину з розвитком ДМН та можливість його використання у якості біомаркера ДМН, було підтверджено у однофакторному регресійному аналізі: виявлено зростання ризику виникнення ДМН із зростанням вмісту Е-селектину (ВШ=1,19; 95% ВІ 1,12-1,26). Модель мала задовільні критерії ефективності – AUC=0,89 (95% ВІ 0,83-0,94) з чутливістю 89,8% і специфічністю 80,0%.

Висновок. Результати дослідження підтвердили концепцію щодо істотного значення збільшення у крові вмісту Е-селектину для розвитку ДМН при ДР і ЦД2.

Ключові слова: Е-селектин, діабетичний макулярний набряк, регресія, прогноз.

Актуальність. При цукровому діабеті (ЦД) досить частими очними ускладненнями є діабетична ретинопатія (ДР) та діабетичний макулярний набряк (ДМН) з глобальною поширеністю 22,27% і 4,07%, відповідно [1]. Більшість пацієнтів з ДР не мають жодних симптомів доки не розвинеться ДМН або проліферативна ДР.

У 2020 році головними глобальними причинами сліпоти серед людей віком 50 років і старше була катаракта (15,2 мільйона випадків), глаукома (3,6 мільйонів), недостатньо скоригована помилка рефракції (2,3 мільйони), вікова макулярна дегенерація (1,8 мільйонів) і діабетична ретинопатія (0,86 мільйонів)

[2]. Особи з ЦД 2 типу (ЦД2) мають високий ризик як мікросудинних ускладнень (включаючи ретинопатію, нефропатію та нейропатію), так і макросудинних ускладнень (таких як серцево-судинні супутні захворювання) через гіперглікемію та окремі компоненти метаболічного синдрому (інсулінорезистентності) [3]. На ЦД2 припадає 90% випадків діабету, і його можна значною мірою запобігти, якщо вести здоровий спосіб життя [3].

Серед пацієнтів із нещодавно діагностованим ЦД2, ДР є досить частим ускладненням (сумарна поширеність 13,1%; 95% ВІ 11,1%-15,1%), що вказує на важливість створення ефективних стратегій ранньої діагностики

пошкодження сітківки [4]. За результатами 10-річного дослідження (з 2009 по 2018 роки) спостерігалось збільшення щорічної поширеності пацієнтів з ДМН (з 0,7% до 2,6%; $P < 0,001$), причому у чоловіків поширеність була вищою, ніж у жінок [5].

Навіть за умов активного лікування за допомогою анти-VEGF терапії, частина очей демонструє стійкий ДМН, коли товщина сітківки зменшується менш ніж на 10-25% після 6 місяців лікування [6]. Цей факт підтверджує необхідність пошуку нових патогенетичних біомаркерів та, відповідно, можливих напрямків терапії, особливо на ранніх стадіях захворювання. Рівень недиагностованого ЦД2 перевищує 50% у всьому світі, отже впровадження ефективного скринінгу захворювання та його ускладнень шляхом виявлення нових біомаркерів є важливою задачею сучасної офтальмології [7].

Серед таких факторів доведена роль фактору некрозу пухлин- α (TNF α), тромбоцитарного фактору росту (PDGF), ендотеліну-1 та інших [8].

Важливими регуляторними судинними факторами в нормі та при ЦД є молекули міжклітинної адгезії, а саме, L-, E- та P-селектини, які регулюють процеси адгезії імуноткомпетентних клітин крові до ендотелію [9].

Показано, що рівень розчинного E-селектину був значно вищим у пацієнтів з ЦД2 порівняно з контрольною групою, хоча за стадіями ДР різниці виявлено не було [10]. Збільшення вмісту у крові пацієнтів з ДР та ЦД2 E-селектину та інших судинних факторів дозволило довести роль ендотеліальної дисфункції у виникненні ДР, а поступове збільшення E-селектину по мірі розвитку стадій ДР показало його значення для її прогресування [11].

Вивчення багатьох циркулюючих ангіогенних біомаркерів показало їх незалежну прогностичну цінність для розвитку ЦД2 та його ускладнень, тоді як E-селектин був пов'язаний з ретинопатією, нефропатією і серцево-судинними захворюваннями та міг вважатися предиктором їх розвитку [12].

Було показано, що розчинні молекули адгезії і, в тому числі E-селектин, при ЦД2 були

пов'язані як з діабетичною мікро-, так і з макроангіопатією, при цьому відносний внесок молекул адгезії був більшим при мікроангіопатіях, що не залежало від віку, статі, тривалості діабету, артеріального тиску, вмісту глікованого гемоглобіну, холестерину і статусу куріння [13].

Разом з цим існують дані про відсутність статистично значущих відмінностей між групами пацієнтів з різними стадіями ДР та у залежності від методу лікування і тривалості діабету за вмістом маркерів дисфункції ендотелію, зокрема, E-селектину [14]. При обстеженні невеликої групи пацієнтів (56 осіб) з ДР та ЦД2 не спостерігалось вірогідного підвищення рівня розчинного E-селектину порівняно з контрольною групою [15]. Також не було виявлено кореляції між рівнем E-селектину та розвитком або стадією ДР.

Отже, не можна вважати остаточно визначеною роль E-селектину у розвитку ДР та ДМН при ЦД2.

Ціль: встановити роль E-селектину у розвитку ДМН при ДР різного ступеню у пацієнтів з ЦД2 типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До дослідження залучено 124 пацієнта (124 ока), серед яких 95 (95 очей) мали ЦД 2 типу та ДР різних стадій, а 29 (29 очей) ЦД не мали (контроль). Вік пацієнтів склав від 43 до 85 років, у середньому $66,8 \pm 0,75$ років. Жінок у контрольній групі було 16 (55,2%), чоловіків – 13 (44,8%), а серед пацієнтів з ЦД 2 типу та ДР жінок було 65 (68,4%), чоловіків – 30 (31,6%). При порівнянні за точним критерієм Фішера статистично значущої різниці у розподілі пацієнтів за статтю виявлено не було ($p = 0,164$).

Дослідження було проспективним, когортним, випадок-контроль. Всі обстежені свідомо надали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Всім пацієнтам були виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, що включали візометрію, рефрактометрію, тонометрію, статичну периметрію, гоніоскопію, біомікроскопію, офтальмоскопію. Офтальмоскопію виконували за допомогою асферич-

ної лінзи Volk Super /Field (NC USA) і контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана. Також всім хворим виконували спектральнодоменну оптичну когерентну томографію (ОКТ) на приладі Optical Coherence Tomography 3D OCT-1000 (протокол Retina3D, RetinaRaster); також використовували ОКТ в режимі «Ангіо» (протокол RetinaAngio, wide 6x6 mm). За даними ОКТ визначали центральну товщину сітківки (ЦТС, мкм). Дослідження очного дна проводили на фундус-камері, при необхідності – з фотографуванням в 7 стандартних полях відповідно до модифікованої ETDRS системи клінічних ознак Airlie House [16].

За результатами обстеження та у відповідності із протоколом ETDRS та Інтернаціональною клінічною шкалою тяжкості ДР, пацієнтів розподілили на 3 групи: 1-а (n=29) – з легкою непроліферативною ДР (НПДР), 2-а (n=35) – з помірною та тяжкою НПДР і 3-я (n=31) – з проліферативною ДР (ПДР).

ДМН встановлювали при потовщенні сітківки більше значень нормативної бази даних по полях ETDRS програмного забезпечення спектральнодоменної ОКТ (зазначалося колірною шкалою, що підтверджувало збільшення товщини сітківки за межі норми – жовтим, $p < 0,05$, або червоним кольором, $p < 0,01$). Частота ДМН у пацієнтів з ДР та ЦД2 склала в середньому 62,1%, що по групах розподілялося таким чином: у 1-й – 48,3%, у 2-й – 77,1% і у 3-й – 58,1%; достеменною різниці між частотою ДМН у групах пацієнтів виявлено не було ($p > 0,2$).

Порушення вуглеводного обміну визначали за рівнем глікемії та вмістом у крові глікованого гемоглобіну (HbA1c).

Пацієнти з ЦД та ДР (n=95) мали гіперглікемію (глюкоза крові $8,51 \pm 0,82$ ммоль/л), збільшений вміст у крові глікованого гемоглобіну ($7,36 \pm 0,15\%$), гіршу гостроту зору ($0,60 \pm 0,03$) та більшу ЦТС ($318 \pm 11,2$ мкм) у порівнянні з контролем ($p < 0,001$ за всіма показниками). Це підтверджувало наявність тривалих порушень вуглеводного обміну, збільшення неферментного глікування білків та специфічного діабетогенного пошкодження сітківки.

Вміст розчинного Е-селектину у крові ви-

значали імуноферментним методом із застосування реактивів «Human sE-selectin INSTANT ELISATM Kit» виробництва Invitrogen ThermoFisher Scientific (USA).

Для статистичних досліджень використано програмні пакети MedStat і MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba) [17].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Оцінка вмісту Е-селектину у сироватці крові показало його достеменно збільшення у пацієнтів, що мали ДР (у 1,6 рази; $p < 0,001$), що зберігалось при стратифікації пацієнтів за стадіями ДР (табл. 1).

Порівняльний аналіз по групах показав (рис. 1), що вміст Е-селектину мав чітку та статистично значущу тенденцію до прогресивного збільшення з максимумом у 3-й групі ($p < 0,05$ при порівнянні груп з контролем та між собою).

Кореляційний аналіз, який був проведений по групах пацієнтів з різними стадіями ДР, показав наявність позитивних зв'язків вмісту у крові Е-селектину з вмістом у крові глікованого гемоглобіну і ЦТС, а також – негативний зв'язок з гостротою зору (табл. 2).

Ці результати прямо підтверджували роль збільшення вмісту у крові Е-селектину для розвитку основних патологічних процесів при ЦД2 та ДР, які пов'язані з декомпенсацією вуглеводного обміну, набряком сітківки та погіршенням функції ока. Досить цікавим фактом виявилася від'ємна кореляція вмісту у крові Е-селектину і тривалості діабету ($r = -0,431$) у 3-й групі пацієнтів. Отже, за ПДР при меншій тривалості діабету вміст Е-селектину був вищим, що могло вказувати на значення цього фактору для розвитку ПДР.

Аналіз розподілу пацієнтів за наявністю ДМН встановив, що його розвиток спостерігався у 62,1%, що статистично по групах пацієнтів не розрізнялося і вказувало на відсутність прямої залежності розвитку ДМН від стадії ДР.

Вміст у крові Е-селектину при розподілі пацієнтів з ДР та ЦД2 був у 1,3 рази вищим за наявністю ДМН ($p < 0,001$), ніж без такого (табл. 3).

Вміст Е-селектину у сироватці крові пацієнтів по групах (нг/мл)

Група	Вміст Е-селектину, нг/мл	p
Контроль	27 (21,15 – 30,825)	<0,001
ДР	43,6 (37,275 – 52,55)	
1-а	34,9±5,4 2,3	<0,001
2-а	45,9±8,8 1,3	
3-я	52,4±8,4 1,2	

Примітки: ДР – всі пацієнти з діабетичною ретинопатією; у випадку нормального закону розподілу представлено $M \pm SD$, у випадку закону розподілу відмінного від нормального – $Me (Q_I - Q_{III})$; у випадку нормального закону розподілу для порівняння використано ANOVA, для постеріорних порівнянь – критерій Шеффе; у випадку закону розподілу відмінного від нормального використано критерій Крускала-Уолліса для постеріорних порівнянь – критерій Данна:

- 1 – відмінність від групи 1 статистично значима, $p < 0,05$;
- 2 – відмінність від групи 2 статистично значима, $p < 0,05$;
- 3 – відмінність від групи 3 статистично значима, $p < 0,05$.

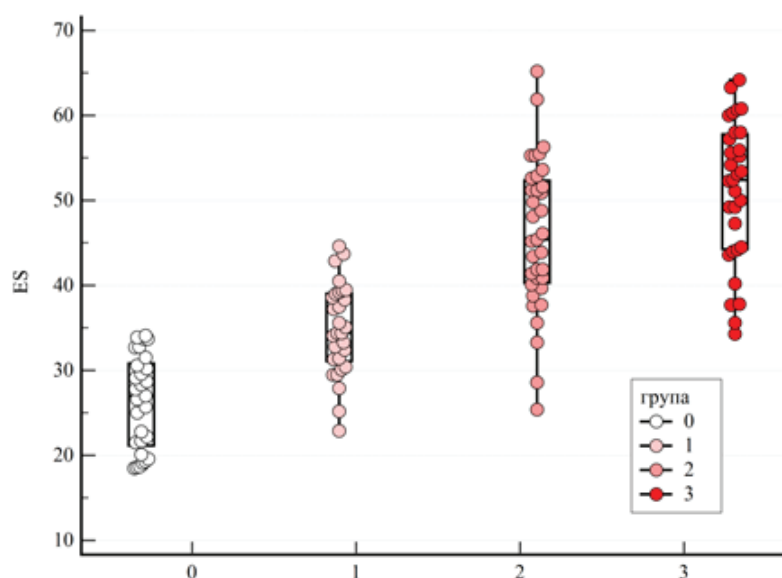


Рис. 1. Гістограма розподілу значень вмісту у сироватці Е-селектину по групах пацієнтів. Прямокутниками позначено дані, що попадають у 95% вірогідний інтервал. Відмінність між всіма групами за критерієм Шеффе $p < 0,05$

Таблиця 2

**Показники рангової кореляції Спірмена вмісту Е-селектину
з клінічними показниками**

Вік	Тривалість діабету	Глюкоземія	Вміст HbA1c	МГЗК	ЦТС
1-а група					
-	-	-	0,675	-0,451	0,655
2-а група					
-	-	-	0,390	-0,447	-
3-я група					
-	-0,431	-	0,387	-0,386	0,507

Примітка. Указано тільки значення, що статистично відмінні від 0 при $p < 0,05$.

Таблиця 3

**Вміст Е-селектину у сироватці крові пацієнтів по групам за наявністю діабетичного
макулярного набряку (нг/мл)**

Група	Вміст Е-селектину, нг/мл		p*
	ДМН-	ДМН+	
ДР	37,6±8,9	48,3±8,7	<0,001
1-а	31,2±3,8	38,7±3,9	<0,001
2-а	38,6±10,9	48,1±7,0	0,003
3-я	44,4±6,6	55,9±5,8	<0,001

Примітки: МН- – макулярного набряку не було, МН+ – макулярний набряк наявний;
ДР – всі пацієнти з діабетичною ретинопатією; у випадку нормального закону розподілу дані
представлені у вигляді $M \pm SD$;

* – для порівняння використано критерій Шеффе.

Ця тенденція зберігалася й при розподілі пацієнтів за стадіями ДР – у всіх групах за наявністю ДМН вміст Е-селектину був значно вищим (у 1,2-1,3 рази; $p < 0,01$) з максимальною різницею у 3-й групі (рис. 2).

Такі результати дослідження дозволили вважати вміст у крові Е-селектину незалежним біомаркером розвитку ДМН, для підтвердження чого був застосований математичний аналіз їх зв'язку із застосуванням однофакторного регресійного аналізу [17].

Для побудови моделі однофакторної логістичної регресії були використані дані 59 пацієнтів з ДМН (результуюча змінна $Y=1$) і дані

36 пацієнтів, у яких ДМН не було (результуюча змінна $Y=0$). В якості фактору ризику аналіз проводився для вмісту Е-селектину у крові.

Побудова однофакторної моделі регресії (табл. 4) виявила зростання ($p < 0,001$) ризику виникнення ДМН із зростанням вмісту Е-селектину ($ВШ=1,19$; 95% ВІ 1,12-1,26 на кожному одиницю зростання показника; нг/мл).

На рис. 3 наведено криву операційних характеристик тесту прогнозування ризику ДМН за показником Е-селектину.

Площа під кривою операційних характеристик цього тесту $AUC=0,89$ (95% ВІ 0,83 – 0,94). При виборі оптимального порогу чутливості

Таблиця 4

**Коефіцієнти однофакторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику
виникнення ДМН за вмістом у крові Е-селектину**

Факторна ознака	Значення коефіцієнту моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності від 0	Показник ВШ (95% ВІ)
Е-селектин	$0,17 \pm 0,03$	$<0,001$	1,19 (1,12 – 1,26)

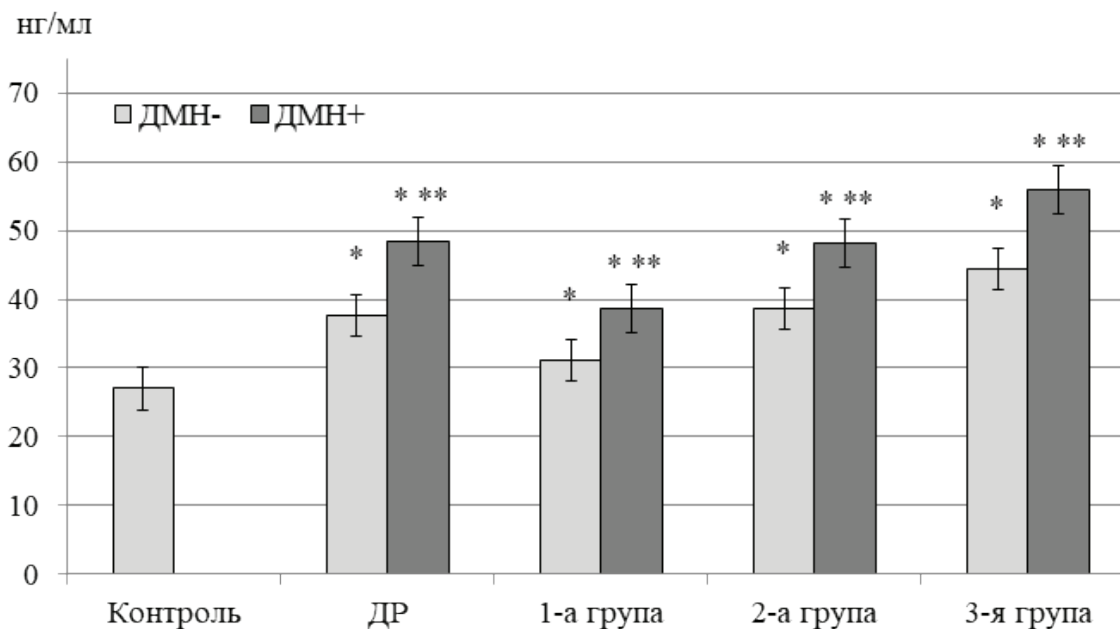


Рис. 2. Вміст Е-селектину у сироватці крові (нг/мл) по групах пацієнтів за наявністю ДМН. ДМН- – діабетичного макулярного набряку не було, ДМН+ – діабетичний макулярний набряк наявний; ДР – всі пацієнти з діабетичною ретинопатією;

* – $p < 0,05$ при порівнянні з контрольною групою;

** – $p < 0,05$ при порівнянні ДМН- і ДМН+ у групі

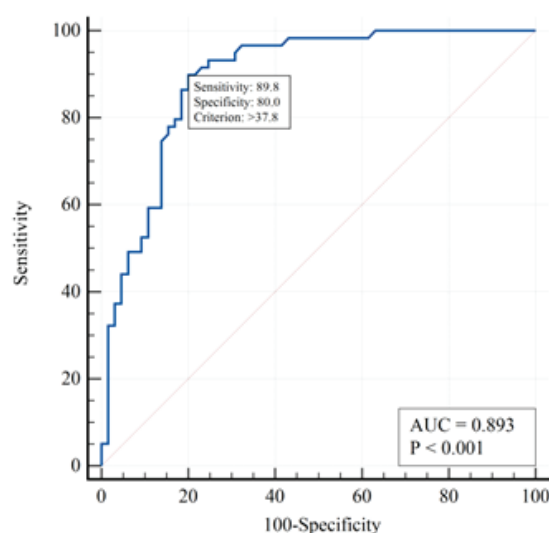


Рис. 3. ROC-крива прогнозування ризику ДМН за показником Е-селектину

тесту становить 89,8% (95% ВІ 79,2% – 96,2%), специфічність – 80,0% (95% ВІ 68,2% – 88,9%). Межовим значенням вмісту у сироватці крові Е-селектину для прогнозування ДМН є 37,8 нг/мл.

Таким чином, вміст у крові Е-селектину при ДР та ЦД2 був достеменно збільшеним при всіх стадіях ДР, з максимумом при ПДР, що прямо корелювало з показниками, які відображали глікемічний контроль, набряк сітківки та погіршення гостроти зору. Вміст Е-селектину при розподілі за наявністю ДМН був вищим, що зберігалось для всіх стадій ДР. Наявність патогенетичного зв'язку збільшення вмісту Е-селектину з розвитком ДМН та можливість його використання у якості біомаркера ДМН, було підтверджено у регресійному аналізі: виявлено зростання ризику виникнення ДМН ($BS=1,19$; 95% ВІ 1,12-1,26) із зростанням вмісту Е-селектину. Модель мала задовільні критерії ефективності – $AUC=0,89$ (95% ВІ 0,83 – 0,94), чутливість – 89,8% і специфічність – 80,0%.

Оцінка ключових системних факторів ризику прогресування ДР при ЦД2 майже 100 тис. пацієнтів з Північній Каліфорнії показала, що найсильніший вплив мав вміст у крові глікованого гемоглобіну ($HbA1c$), а також артеріальний тиск і вміст у крові загального холестерину [18]. Позитивна кореляція Е-селектину з вмістом $HbA1c$, що була отримана у нашому дослідженні, показує, що зв'язок Е-селектину з прогресуванням ДР може реалізуватися через механізми ендотеліальної дисфункції, що погіршуються при поганому глікемічному контролі.

З іншого боку у пацієнтів з ЦД2 та ДР різних стадій не було встановлено кореляції між рівнем Е-селектину та вмістом у крові $HbA1c$ або тривалістю діабету ($r=0,10$; $p>0,05$ та $r=-0,12$; $p>0,05$, відповідно) [15].

В цьому плані слід обговорити встановлену нами наявність негативної кореляції вмісту у крові Е-селектину і тривалості діабету ($r=-0,431$; $p<0,05$) у пацієнтів з ПДР. Остання є найбільш віддаленою стадією ДР і наявність зв'язку високого вмісту Е-селектину з меншою тривалістю діабету може свідчити про більшу швидкість розвитку ПДР у осіб з надвисоким Е-селектином.

На підтвердження цієї думки свідчить і повідомлення про те, що у пацієнтів з ПДР сироваткові та внутрішньоочні концентрації адгезивних молекул і, у тому числі Е-селектину, були значно вищими ніж у контрольній групі [19, 20]. Суттєве підвищення вмісту Е-селектину залежно від стадії ДР було відмічено при ЦД2 із найбільшим приростом при ПДР [10, 21].

У пацієнтів з ЦД 1 типу в дослідженні контролю діабету та його ускладнень (DCCT), саме збільшення вмісту у крові Е-селектину на початковому рівні (ще до розвитку ускладнень) прогнозувало підвищений ризик розвитку ДР протягом 16 років спостереження [22]. Високі рівні маркерів запалення, переважно Е-селектину, були важливими предикторами макроальбумінурії у пацієнтів з ЦД 1 типу [23]. Також, на великій вибірці пацієнтів з ЦД 1 типу було показано, що розчинний Е-селектин мав позитивний зв'язок з ДР, альбумінурією та серцево-судинними захворюваннями [24].

Концепцію важливої ролі Е-селектину, як біомаркера пошкодження судин підтвердило довготривале дослідження молодих пацієнтів з ДР та ЦД2 [25]. Встановлено, що протягом 1-3 років на кожен 1% підвищення $HbA1c$, вміст у крові Е-селектину збільшувався на 6,8% ($P<0,0001$). Також Е-селектин підвищувався на 3,7% і 4,2% на кожні 10 мм рт.ст. підвищення систолічного і діастолічного артеріального тиску, відповідно (обидва $P<0,0001$) і, крім того, Е-селектин був вищим на 15,5% у пацієнтів з мікроальбумінурією ($P<0,01$).

Щодо обговорення механізмів зв'язку підвищення вмісту Е-селектину з ДР, то можна зазначити, що сироватка пацієнтів з ЦД2 *in vitro* індукувала значно вищу експресію Е-селектину, утворення активних форм кисню та активність NADH-оксидази у ендотеліальних клітинах коронарної артерії людини, ніж сироватка пацієнтів контрольної групи [26]. Враховуючи встановлений зв'язок Е-селектину з патологічним глікуванням білків при ЦД2, можна припустити, що метаболічні діабетичні фактори здатні збільшувати ендотеліальну експресію Е-селектину.

ВИСНОВКИ

1. Вміст у крові Е-селектину при ДР та ЦД2 був достеменно збільшеним при всіх стадіях ДР (у 1,2-1,3 рази; $p < 0,01$), з максимумом при ПДР, що прямо корелювало з показниками, які відображали глікемічний контроль, набряк сітківки та погіршення гостроти зору.
2. Вміст Е-селектину при розподілі пацієнтів за наявністю ДМН був вищим, ніж без такого (у 1,3 рази; $p < 0,001$), що зберігалося для всіх стадій ДР.
3. Наявність патогенетичного зв'язку збільшення вмісту Е-селектину з розвитком ДМН та можливість його використання у якості біомаркера ДМН, було підтверджено у регресійному аналізі: виявлено зростання ризику виникнення ДМН із зростанням вмісту Е-селектину (ВШ=1,19; 95% ВІ 1,12-1,26). Модель мала задовільні критерії ефективності – AUC=0,89 (95% ВІ 0,83-0,94) з чутливістю 89,8% і специфічністю 80,0%.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, Bikbov MM, Wang YX, Tang Y, Lu Y, Wong IY, Ting DSW, Tan GSW, Jonas JB, Sabanayagam C, Wong TY, Cheng CY. Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology*. 2021 Nov;128(11):1580-1591. DOI: 10.1016/j.ophtha.2021.04.027
2. GBD 2019 Blindness and Vision Impairment Collaborators; Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health*. 2021 Feb;9(2):e144-e160. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30489-7
3. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, Simonson DC, Testa MA, Weiss R. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Jul 23;1:15019. DOI: 10.1038/nrdp.2015.19
4. Cai K, Liu YP, Wang D. Prevalence of diabetic retinopathy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev*. 2023 Jan;39(1):e3586. DOI: 10.1002/dmrr.3586
5. Lundeen EA, Kim M, Rein DB, Wittenborn JS, Saaddine J, Ehrlich JR, Holliday CS. Trends in the Prevalence and Treatment of Diabetic Macular Edema and Vision-Threatening Diabetic Retinopathy Among Commercially Insured Adults Aged <65 Years. *Diabetes Care*. 2023 Jan 13;dc221834. DOI: 10.2337/dc22-1834
6. Sorour OA, Levine ES, Bauman CR, Elnahry AG, Braun P, Girgis J, Waheed NK. Persistent diabetic macular edema: Definition, incidence, biomarkers, and treatment methods. *Surv Ophthalmol*. 2023 Mar-Apr;68(2):147-174. DOI: 10.1016/j.survophthal.2022.11.008
7. Ortiz-Martínez M, González-González M, Martagón AJ, Hlavinka V, Willson RC, Rito-Palomares M. Recent Developments in Biomarkers for Diagnosis and Screening of Type 2 Diabetes Mellitus. *Curr Diab Rep*. 2022 Mar;22(3):95-115. DOI: 10.1007/s11892-022-01453-4
8. Mogilevskyy SYu, Panchenko IuO, Ziablitsv SV. New risk factors for post-surgical recurrent diabetic maculopathy in type 2 diabetes mellitus. *J.ophthalmol. (Ukraine)*. 2019;5:9-17. DOI: 10.31288/oftalmolzh20195917
9. Nomura S, Omoto S, Yokoi T, Fujita S, Ozasa R, Eguchi N, Shouzu A. Effects of miglitol in platelet-derived microparticle, adiponectin, and selectin level in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Gen Med*. 2011;4:539-45. DOI: 10.2147/IJGM.S22115
10. Kasza M, Meleg J, Vardai J, Nagy B Jr, Szalai E, Damjanovich J, Csutak A, Ujhelyi B, Nagy V.

- Plasma E-selectin levels can play a role in the development of diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017 Jan;255(1):25-30. DOI: 10.1007/s00417-016-3411-1
11. Spijkerman AM, Gall MA, Tarnow L, Twisk JW, Lauritzen E, Lund-Andersen H, Emeis J, Parving HH, Stehouwer CD. Endothelial dysfunction and low-grade inflammation and the progression of retinopathy in Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2007 Sep;24(9):969-76. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2007.02217.x
 12. Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Sep;94(9):3171-82. DOI: 10.1210/jc.2008-2534
 13. Matsumoto K, Sera Y, Ueki Y, Inukai G, Niino E, Miyake S. Comparison of serum concentrations of soluble adhesion molecules in diabetic microangiopathy and macroangiopathy. *Diabet Med.* 2002 Oct;19(10):822-6. DOI: 10.1046/j.1464-5491.2002.00799.x
 14. Siemianowicz K, Francuz T, Gminski J, Telega A, Syzdół M. Endothelium dysfunction markers in patients with diabetic retinopathy. *Int J Mol Med.* 2005 Mar;15(3):459-62.
 15. Ersanli D, Top C, Oncül O, Aydin A, Terekci H. Relationship between serum soluble E-selectin levels and development of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Scand J Clin Lab Invest.* 2007;67(5):474-9. DOI: 10.1080/00365510601110148
 16. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs – an extension of the modified Airlie house classification: ETDRS report № 10. *Ophthalmology.* 2020 Apr;127(4S): 99-119. DOI: 10.1016/j.opthta.2020.01.030
 17. Guryanov VG, Lyakh YuE, Pariy VD, Korotkyi OV, Chalyi OV, Chalyi KO, Tsekhmister YaV. Posibnyk z biostatystyky. Analiz rezultativ medychnykh doslidzhen u paketi EZR (R-statistics) [Handbook of Biostatistics. Analysis of the results of medical research in the package EZR (R-statistics)]. Kyiv: News. 2018: 208. Ukrainian.
 18. Tarasewicz D, Conell C, Gilliam LK, Melles RB. Quantification of risk factors for diabetic retinopathy progression. *Acta Diabetol.* 2023 Mar;60(3):363-369. DOI: 10.1007/s00592-022-02007-6
 19. Adamiec-Mroczek J, Oficjalska-Młyńczak J, Misiuk-Hojło M. Proliferative diabetic retinopathy-The influence of diabetes control on the activation of the intraocular molecule system. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009 Apr;84(1):46-50. DOI: 10.1016/j.diabres.2009.01.012
 20. Adamiec-Mroczek J, Oficjalska-Młyńczak J, Misiuk-Hojło M. Roles of endothelin-1 and selected proinflammatory cytokines in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy: Analysis of vitreous samples. *Cytokine.* 2010 Mar;49(3):269-74. DOI: 10.1016/j.cyto.2009.11.004
 21. Blum A, Pastukh N, Socea D, Jabaly H. Levels of adhesion molecules in peripheral blood correlat with stages of diabetic retinopathy and may serve as bio markers for microvascular complications. *Cytokine.* 2018 Jun;106:76-79. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.10.014
 22. Rajab HA, Baker NL, Hunt KJ, Klein R, Cleary PA, Lachin J, Virella G, Lopes-Virella MF; DCCT/EDIC Group of Investigators. The predictive role of markers of Inflammation and endothelial dysfunction on the course of diabetic retinopathy in type 1 diabetes. *J Diabetes Complications.* 2015 Jan-Feb;29(1):108-14. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2014.08.004
 23. Lopes-Virella MF, Baker NL, Hunt KJ, Cleary PA, Klein R, Virella G; DCCT/EDIC Research Group. Baseline markers of inflammation are associated with progression to macroalbuminuria in type 1 diabetic subjects. *Diabetes Care.* 2013 Aug;36(8):2317-23. DOI: 10.2337/dc12-2521
 24. Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Stehouwer CD, Ebeling P, Fuller JH; EURODIAB Prospective Complications Study group. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble E-selectin are associated with micro- and macrovascular complications in Type 1 diabetic patients. *J Diabetes Complications.* 2006 May-Jun;20(3):188-95. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2005.06.005

25. Tryggestad JB, Shah RD, Braffett BH, Bacha F, Gidding SS, Gubitosi-Klug RA, Shah AS, Urbina EM, Levitt Katz LE; TODAY Study Group. Circulating adhesion molecules and associations with HbA1c, hypertension, nephropathy, and retinopathy in the Treatment Options for type 2 Diabetes in Adolescent and Youth study. *Pediatr Diabetes*. 2020 Sep;21(6):923-931. DOI: 10.1111/pedi.13062
26. Yun MR, Im DS, Lee JS, Son SM, Sung SM, Bae SS, Kim CD. NAD(P)H oxidase-stimulating activity of serum from type 2 diabetic patients with retinopathy mediates enhanced endothelial expression of E-selectin. *Life Sci*. 2006 Apr 25;78(22):2608-14. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.10.044

Article history:

Received: 16.06.2023

Revision requested: 18.07.2023

Revision received: 08.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

THE ROLE OF E-SELECTIN IN THE DEVELOPMENT OF MACULAR EDEMA IN DIABETIC RETINOPATHY DURING TYPE 2 DIABETES

Chugaev D. I.

Shupyk National University of Health Care of Ukraine, Kyiv, Ukraine

dchugaev@gmail.com

Background. Diabetic retinopathy (DR) and diabetic macular edema (DME) are frequent complications of type 2 diabetes (T2D). Implementation of their effective diagnosis and prognosis by identifying new biomarkers is an important task of modern ophthalmology.

Aim: is to establish the role of E-selectin in the development of DME in DR of various degrees in patients with T2D.

Materials and methods. The study included 124 patients (124 eyes) with T2D who had mild (29 eyes, group 1), moderate or severe (35 eyes, group 2) non-proliferative DR and proliferative DR (31 eyes, 3rd group); the control group consisted of 29 eyes without diabetes. All patients underwent standard ophthalmological examinations, spectral domain optical coherence tomography (OCT) with determination of central retinal thickness (CRT, μm). The DME set more values of the regulatory database on the ETDRS fields of the spectral-domain OKT software when the CRT is increased. The content of E-selectin in the blood was determined by the immunoenzymatic method (Invitrogen ThermoFisher Scientific, USA). MedStat and MedCalc v.15.1 software packages (MedCalc Software bvba) were used for statistical research.

Results. The content of E-selectin in the blood in DR and T2D was significantly increased in all stages of DR (1.2-1.3 times; $p < 0.01$), with a maximum in proliferative DR, which directly correlated with indicators that reflected glycemic control (HbA1c), retinal edema (CRT) and visual acuity deterioration. The content of E-selectin when dividing patients according to the presence of DMN was higher than without it (1.3 times; $p < 0.001$), which was preserved for all stages of DR. The existence of a pathogenetic connection between an increase in the content of E-selectin and the development of DME and the possibility of its use as a biomarker of DME was confirmed in a univariate regression analysis: an increase in the DME risk with an increase in the content of E-selectin was found (OR=1.19; 95% CI 1.12-1.26). The model had satisfactory performance criteria - AUC=0.89 (95% CI 0.83-0.94) with a sensitivity of 89.8% and a specificity of 80.0%.

Conclusion. The results of the study confirmed the concept of the significant importance of increasing the content of E-selectin in the blood for the development of DME in DM and T2D.

Key words: E-selectin, diabetic macular edema, regression, prognosis.

ПОЛІМОРФІЗМ rs2149356 ГЕНА TLR4 ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 2 ТИПУ – МОЖЛИВИЙ ЗВ'ЯЗОК З ДІАБЕТИЧНИМ МАКУЛЯРНИМ НАБРЯКОМ

Іванюта Є.П.

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

Актуальність. Відома асоціація поліморфізмів у некодуючих ділянках гена TLR4 і ризику розвитку очних ускладнень цукрового діабету 2 типу (ЦД2), при цьому деякі поліморфізми не мають зв'язку, інші збільшують ризик ускладнень, а деякі такий ризик зменшують.

Ціль: встановити зв'язок поліморфізму rs2149356 гена TLR4 з діабетичною ретинопатією (ДР) та діабетичним макулярним набряком (ДМН) при ЦД2.

Матеріали та методи. Дослідження включало 81 пацієнта (81 око) із ЦД2, у яких за настановою Американської Академії Офтальмології (2002 рік) виявлені ДР і ДМН, контрольну групу склали 50 пацієнтів (50 очей) з ЦД2, нормалізованим вуглеводним обміном, ДР 0 (ретинопатія відсутня) та відсутнім ДМН. Генотипи rs2149356 визначали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі із застосуванням ампліфікатора Gene Amp® PCR System 7500 ("Applied Biosystems", США) та тест-систем TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США). Для статистичних досліджень використано програмні пакети MedStat і MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba).

Результати. У даному дослідженні не виявлено асоціації генетичного поліморфізму rs2149356 гена TLR4 з розвитком ДР та ДМН при ЦД2 ($p=0,326$). Стратифікація за стадіями ДР показала відсутність залежності розподілу генотипів, тоді як за ступенем ДМН розподіл генотипів достеменно відрізнявся при ДМН 3. Так, серед носіїв предкового генотипу G/G не зустрічалось жодного з ДМН 3, межовий рівень загального об'єму сітківки (ЗОС) склав 6,7 мм3, вище якого визначено ДМН 1 або 2. Всі носії гетерозиготи G/T мали ДМН 3, а для носіїв мінорної гомозиготи T/T визначено два межових значення ЗОС: вище за 6,7 мм3 було визначено ДМН 1 або 2, а вище за 8,7 мм3 – ДМН 3. Аналіз зв'язку поліморфізму rs2149356 TLR4 з фенотипом пацієнтів показав більші центральну товщину сітківки та ЗОС у носіїв гетерозиготи та мінорної гомозиготи T/T, що відповідало більшому пошкодженню сітківки у порівнянні з носіями предкової гомозиготи G/G ($p<0,001$).

Висновок. Отримано дані щодо зв'язку діабетогенного пошкодження сітківки з поліморфізмом rs2149356 – у носіїв алелі T набряк сітківки був більше виражений.

Ключові слова: загальний об'єм сітківки, набряк, межовий рівень.

Актуальність. Найбільш поширеними очними ускладненнями ЦД2 за даними Міжнародної діабетичної федерації та основною причиною сліпоти у дорослих працездатного віку є діабетична ретинопатія (ДР) та діабетичний макулярний набряк (ДМН) [1, 2].

У патогенезі ДР провідна роль належить запальним процесам, що запускається хронічною гіперглікемією, та приводять до активації клітинного апоптозу, нейродегенерації, окислювального стресу і неоваскуляризації [3].

Toll-подібні рецептори (TLR) розпізнають запальні чинники, зокрема продукти глікування, запалення, апоптозу та ініціюють імунних реакцій [4, 5]. Генетична схильність є одним із головних чинників, що викликають очні ускладнення ЦД2 [6, 7]. Досить добре описа-

на асоціація поліморфізмів гена TLR4 і ризику розвитку ДР, при цьому деякі поліморфізми не мають зв'язку, інші збільшують ризик, а деякі ризик ДР зменшують [8-10].

Ціль: встановити зв'язок поліморфізму rs2149356 гена TLR4 з діабетичною ретинопатією та діабетичним макулярним набряком за цукрового діабету 2 типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До дослідження залучено 131 пацієнт (131 око), серед яких 81 мали ЦД2, ДР та ДМН, а 50 – тільки ЦД2 (контрольна група). Вік пацієнтів склав від 53 до 85 років, у середньому $65,7 \pm 0,83$ років. Різниця розподілу осіб у дослідженні за статтю не було – серед осіб контрольної групи

жінок було 52,0%, чоловіків – 48,0%, серед пацієнтів з ДР і ДМН, відповідно, – 45,7% та 54,3% ($p=0,495$). Дослідження було проспективним, когортним, випадок-контроль. Пацієнти, які були залучені в дослідження, надавали інформовану згоду.

Усі дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм і вимог Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977 р.), відповідного положення ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009.

Пацієнти, що були відібрані у дане дослідження, мали ЦД2 та вперше зверталися за спеціалізованою офтальмологічною допомогою. Всім пацієнтам були виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, що включали візіометрію, рефрактометрію, тонометрію з визначенням внутрішньоочного тиску (ВОТ; мм рт.ст.), статичну периметрію, гоніоскопію, біомікроскопію, офтальмоскопію. Офтальмоскопію виконували за допомогою асферичної лінзи Volk 90D (USA) і контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана відповідно до протоколу ETDRS [11]. Всім пацієнтам виконували дослідження на оптичному когерентному томографі (ОКТ) на приладі SWEPT source OCT Triton plus (Торсон, Японія) в режимі ОКТ за протоколом сканування 3D Macula (H) 7*7 mm та фото очного дна. У всіх пацієнтів була діагностована ДР. Стадію ДР визначали за Інтернаціональною клінічною шкалою тяжкості ДР Американської академії офтальмології (2002 рік). За результатами обстеження пацієнтів розподілили на 3 групи: 1-а ($n=10$) – з легкою непроліферативною ДР (НПДР), 2-а ($n=33$) – з помірною та тяжкою НПДР і 3-я ($n=38$) – з проліферативною ДР (ПДР). Контрольну групу склали 50 пацієнтів (50 очей) з ЦД2, нормалізованим вуглеводним обміном, ДР 0 (ретинопатія відсутня) та відсутнім ДМН.

Визначали наявність ДМН за даними наступних критеріїв оптичної томографії: перший оснований на збільшенні товщини макулярної ділянки сітківки згідно решітки ETDRS,

другий критерій визначав присутність інтраретинальної рідини на двовимірних томографічних зрізах (b-scan). Діагноз ДМН встановлювали при визначенні потовщення сітківки макулярної ділянки, що перевищували значення нормативної бази даних ОКТ, що враховували стать, вік та расу пацієнта. Збільшення товщини сітківки виражалось в перцентилях, що підсвічувалось помаранчевим та рожевим кольором по шкалі, що відповідало потовщенню сітківки в програмному забезпеченні приладу. Для аналізу допускали знімки ОКТ хорошої якості, що відповідали індексу градації якості більше 40.

Ступінь тяжкості ДМН визначали за Інтернаціональною клінічною шкалою тяжкості ДМН Американської Академії офтальмології (2003 рік): Ступеню ДМН 0 відповідали знімки сітківки з товщиною макулярної ділянки, що відповідали середньостатистичній нормі (всі 9 секторів решітки ETDRS позначалися зеленим кольором) та не фіксували наявності інтраретинальної рідини на B-scan в усіх секторах. Ступеню ДМН 1 (легкого ступеню) відповідали знімки зі збільшеною товщиною сітківки в секторах 7, 6, 8, 9 решітки ETDRS, що позначалися помаранчевим або рожевим кольором, причому в інших секторах 1-5 товщина макули відповідала нормі (маркування зеленим). За критерієм наявності інтраретинальної рідини, не визначалося її ознак в секторах 1-5. При ДМН 2 (середнього ступеню важкості) товщина макулярної ділянки була підвищена в секторах 2-5 решітки ETDRS, що позначалися помаранчевим або рожевим кольором, причому в секторі 1 товщина відповідала нормі. Критеріями відповідності ДМН 3 (важкого ступеню) було маркування рожевим кольором, що відповідало потовщенню в секторі 1. За критерієм інтраретинальної рідини, її наявність відмічалася в секторі 1. Окремо аналізували центральну товщину сітківки (ЦТС, мкм) і загальний об'єм сітківки (ЗОС, мм3).

Порушення вуглеводного обміну визначали за рівнем глюкози венозної плазми натще та вмістом у крові глікованого гемоглобіну (HbA1c).

Генотипи поліморфізму гену TLR4 rs2149356

(Chr:9.117711921; Intron TLR4) визначали методом полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі із застосуванням ампліфікатора Gene Amp® PCR System 7500 (“Applied Biosystems”, США). Геномну ДНК виділяли з венозної крові (PureLink® Genomic DNA Kit For Purification of Genomic DNA; “INVITROGEN”; США). Для генетичного аналізу застосовано тест-системи TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (США).

Для статистичних досліджень використано програмні пакети MedStat і MedCalc v.15.1 (MedCalc Software bvba). При проведенні аналізу генетичних даних була проаналізована загальна таблиця випадків і частот генотипів і алелей, потім – частотні різниці, які вказували на вплив генотипів та алелей на розвиток захворювання [12].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі дослідження було проведено порівнянні розподілу генотипів у пацієнтів, що були включені до даного дослідження, з

результатами Програми 1000 Genomes Project Phase 3 (<http://www.internationalgenome.org/>). Визначення частот rs2149356 у Програмі 1000 Genomes було проведено у 503 осіб європейської популяції (European). Предковий генотип G/G мав частоту 0,475 (у наших дослідженнях – 0,405), гетерозигота G/T – 0,423 (у наших дослідженнях – 0,488), мутантна гомозигота T/T – 0,101 (у наших дослідженнях – 0,107); різниця статистично не значуща ($\chi^2=2,16$; $p=0,339$).

Порівнянні груп дослідження показало (рис. 1), що у пацієнтів з ДР і ДМН була відмічена тенденція до збільшення частоти мінорної гомозиготи T/T та алелі T, у порівнянні з пацієнтами що мали ЦД2 без очних ускладнень. Але ці відмінності були статистично не значущі ($p=0,349$ та $p=0,214$, відповідно).

Визначення впливу розподілу частот генотипів та алелей rs2149356 на розвиток ДР і ДМН у пацієнтів з ЦД2 показало відсутність їх асоціації з захворюванням (табл. 1).

Стратифікація пацієнтів за стадією ДР показала відсутність залежності розподілу geno-

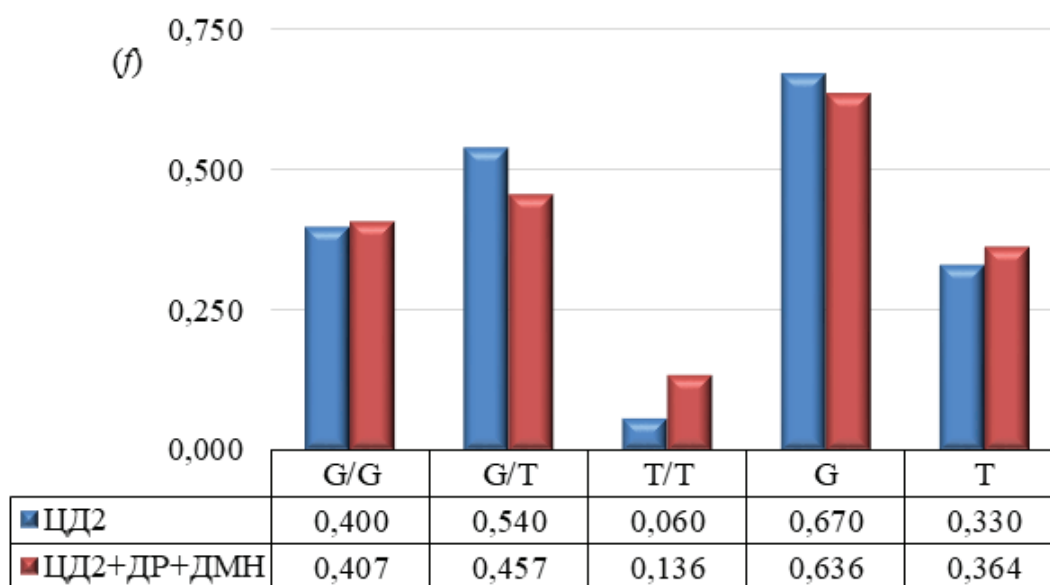


Рис. 1. Розподіл частот генотипів і алелей rs1927911 гена TLR4 у пацієнтів дослідних груп; статистична значущість за критерієм ксі-квадрат розбіжностей частот генотипів склала $p=0,349$; алелей – $p=0,214$. За вертикальною віссю – частоти (f); за горизонтальною – генотипи і алелі

Таблиця 1

**Вплив розподілу частот генотипів rs2149356 гена TLR4
на розвиток ДР і ДМН у пацієнтів з ЦД2**

Генотипи Аллелі	ЦД2Т+ДР+ДМН, n (f)	ЦД2, n (f)	χ^2	p
G/G	33 (0,407)	20 (0,400)	2,24	0,326
G/T	37 (0,457)	27 (0,540)	0,19	0,668
T/T	11 (0,136)	3 (0,060)		
G	103 (0,636)	67 (0,670)		
T	59 (0,364)	33 (0,330)		

Примітки: n – кількість; f – частота; χ^2 – критерій Пірсона з урахуванням поправки на неперервність;
p – статистична значущість розбіжностей між групами.

Таблиця 2

**Розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs2149356 гена TLR4
у групах хворих за стадіями ДР**

Генотипи	Групи хворих за стадіями ДР, n (f)			
	Контроль (ДР 0)	1-а (легка НПДР)	2-а (помірна або тяжка НПДР)	3-я ПДР
G/G	20 (0,400)	5 (0,500)	16 (0,485)	12 (0,316)
G/T	27 (0,540)	3 (0,300)	13 (0,394)	21 (0,553)
T/T	3 (0,060)	2 (0,200)	4 (0,121)	5 (0,132)
p	0,477			
G	67 (0,670)	13 (0,65)	45 (0,682)	45 (0,592)
T	33 (0,330)	7 (0,35)	21 (0,318)	31 (0,408)
p	0,663			

Примітки: n – кількість; f – частота; p – значущість відмінностей за критерієм χ -квадрат
Pearson з урахуванням поправки на неперервність.

Таблиця 3

**Розподіл генотипів та алелей поліморфізму rs2149356 гена TLR4
у групах хворих за ступенем ДМН**

Генотипи	Групи хворих за ступенем ДМН, n (f)			
	ДМН 0	ДМН 1	ДМН 2	ДМН 3
G/G	20 (0,400)	13 (0,867)	20 (0,909)	0 (0,0)
G/T	27 (0,540)	0 (0,0)	0 (0,0)	37 (0,841)
T/T	3 (0,060)	2 (0,133)	2 (0,910)	7 (0,159)
p	<0,001			
G	67 (0,670)	26 (0,867)	40 (0,909)	37 (0,420)
T	33 (0,330)	4 (0,133)	4 (0,091)	51 (0,580)
p	<0,001			

Примітки: n – кількість; f – частота; p – значущість відмінностей за критерієм χ -квадрат
Pearson з урахуванням поправки на неперервність.

**Вплив генотипів поліморфізму rs2149356 гена TLR4 на
показники вуглеводного обміну та офтальмологічні показники,
M±SD або Me (Q_I – Q_{III})**

Показник	Група	Генотипи			p
		G/G	G/T	T/T	
Глюкоза, ммоль/л	ЦД2	4,85 (4,425–5,5)	4,6 (4,5–5)	4,6 (4–5,35)	0,705
	ЦД2+ДР+ДМН	7,1 (5,775–8,675)	7,9 (5,7–10,925)	6,2 (5,8–7,55)	0,279
p*		<0,001	<0,001	0,024	
HbA1c,%	ЦД2	5,1 (4,9–5,65)	5,5 (5,3–5,7)	5,3 (5,15–5,375)	0,059
	ЦД2+ДР+ДМН	7 (6,25–7,825)	7,5 (7–7,85)	6,8 (6,4–7,6)	0,195
p*		<0,001	<0,001	0,014	
ЦТС, мкм	ЦД2	240,5 (228,5–249)	238,0 (224,7–246,5)	231,0 (230,25–231)	0,477
	ЦД2+ДР+ДМН	291 (232–334)	454 (356,2–509,75)	351 (289–537,25)	<0,001
p*		0,003	<0,001	0,035	
ЗОС, мм3	ЦД2	5,65 (5,3–6,2)	5,8 (5,3–6,18)	5,3 (5,2–5,52)	0,335
	ЦД2+ДР+ДМН	8,3 (7,547–8,86)	10,89 (10,08–11,903)	9,56 (8,05–13,332)	<0,001
p*		<0,001	<0,001	0,006	
ВОТ, мм р.т.ст.	ЦД2	14 (13–15,5)	16 (12,5–18)	12 (11,25–14)	0,094
	ЦД2+ДР+ДМН	15 (11–17)	16 (13–19)	18 (11,5–19)	0,156
p*		0,775	0,764	0,235	

Примітки: порівняння проводилося за критерієм Крускал-Уолліса;

p – статистична значущість розбіжностей у групі; p* – статистична значущість розбіжностей між групами, порівняння проводилося за критерієм Манна-Уїтні.

типів (табл. 2), тоді як при стратифікації пацієнтів та ступенем ДМН така залежність була встановлена (табл. 3).

При цьому спостерігалось збільшення частоти генотипу G/G у пацієнтів з ДМН. Проведення апостеріорних порівнянь показало відмінність розподілу за всіма генотипами пацієнтів з ДМН 0 від інших груп (p<0,05 з урахуванням поправки Бонферроні у кожному випадку).

Виявлено також відмінність розподілу за всіма генотипами пацієнтів з ДМН 3 від інших груп (p<0,05 з урахуванням поправки Бонферроні у кожному випадку). Відмінності між пацієнтами з ДМН 1 та ДМН 2 виявлено не було (p>0,05).

При порівнянні розподілу алелей проведення апостеріорних порівнянь виявило відмінність розподілу пацієнтів з ДМН 0 від ДМН 2 та ДМН 3 (p<0,05 з урахуванням поправки

Бонферроні у кожному випадку). Виявлено також відмінність розподілу за обома алелями пацієнтів з ДМН 3 від інших груп (p<0,05 з урахуванням поправки Бонферроні у кожному випадку). Відмінності між групами ДМН 1 та ДМН 2 не виявлено (p>0,05).

Також було проаналізовано зв'язок генотипів з дослідженими фенотипічними показниками (табл. 4).

Всі досліджені показники, за виключенням ВОТ, були достеменно вищими у пацієнтів з ДР та ДМН ніж без таких (p<0,05) за всіма генотипами.

За критерієм Крускал-Уолліса впливу генотипів на вміст глюкози та глікованого гемоглобіну в обох групах пацієнтів виявлено не було (p>0,05). Натомість, ЦТС та ЗОС у пацієнтів з ДР та ДМН мали зв'язок з генотипами rs2149356 (p<0,001). Обидва показники були вищими у носіїв гетерозиготи та мінорної го-

мозиготи, тобто за наявності мінорної алелі Т. (рис. 2). Виходячи з цього можна припустити, що поліморфізм rs2149356 сприяв діабетогенному пошкодженню сітківки.

У світлі отриманих результатів, дані, що представлені у таблицях 2 і 3 можуть мати і

іншу інтерпретацію. Якщо стратифікація пацієнтів за стадіями ДР не виявила будь якого зв'язку із генотипами rs2149356, то при проведенні лінійного регресійного аналізу зв'язку генотипів у пацієнтів з різним ступенем ДМН виявлені певні особливості (рис. 3).

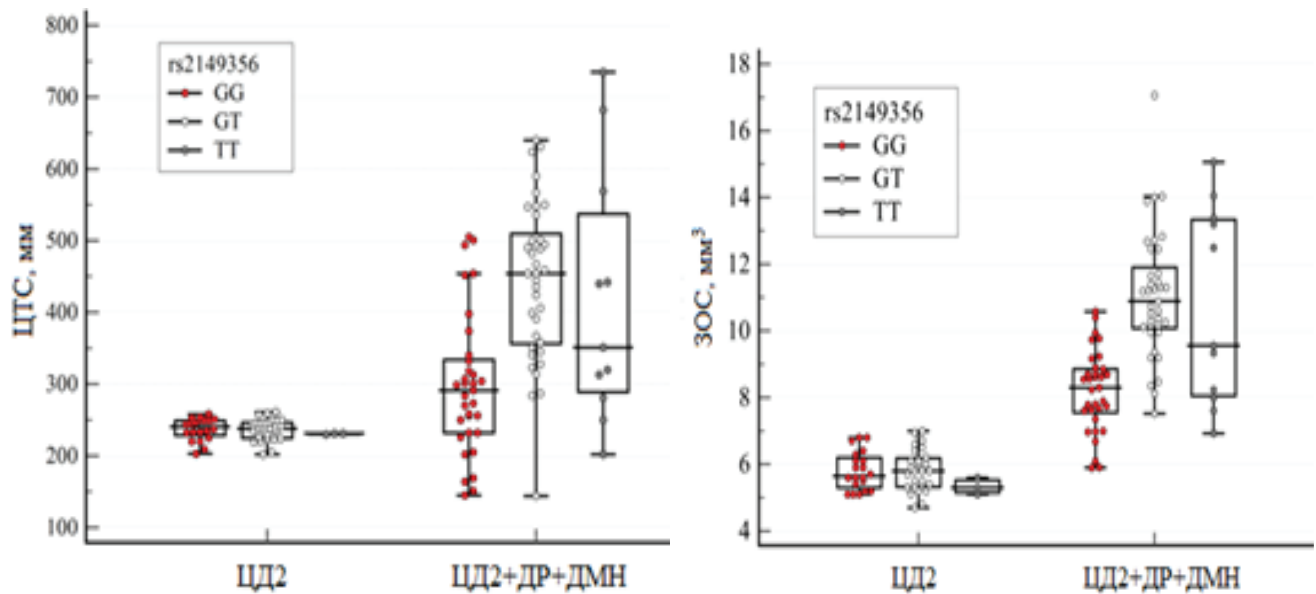


Рис. 2. Результати двохфакторного аналізу показників ЦТС (зліва) та ЗОС (справа) у пацієнтів-носіїв різних генотипів rs2149356 гена TLR4 з ЦД2 за наявності та відсутності ДР і ДМН ($p < 0,001$ для обох порівнянь). Кольорові кружечки – дані пацієнтів-носіїв відповідних генотипів; горизонтальні рисочки у прямокутниках – медіани (Me); у прямокутниках – значення I і III кuartилів ($Q_I - Q_{III}$), вертикальні планки з рисками – мінімальні та максимальні значення

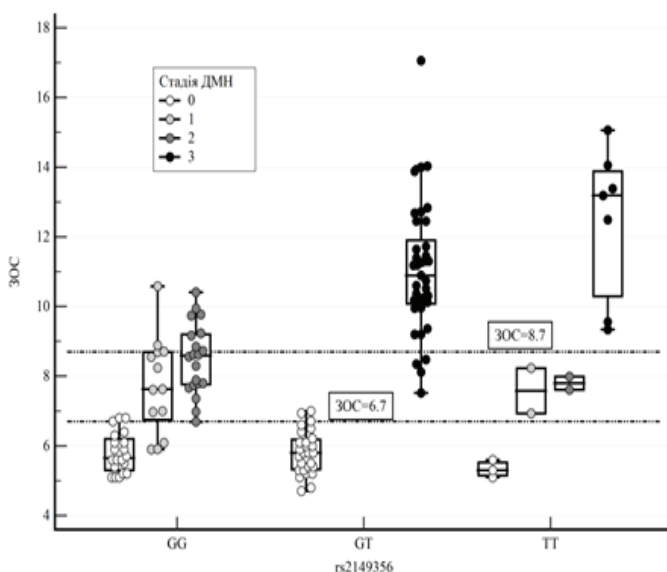


Рис. 3. ЗОС (мм³) при ДМН різного ступеню у пацієнтів-носіїв різних генотипів rs2149356. Кружечками відповідного кольору представлені дані ЗОС у пацієнтів з різним ступенем ДМН; риси у прямокутниках – медіани (Me), прямокутники – I і III кuartилі ($Q_I - Q_{III}$), вертикальні планки з рисками – мінімальні та максимальні значення

Для визначення ступеню ДМН можна виділити два значущих чинника – ЗОС і генотипи rs2149356. Серед носіїв генотипу G/G не зустрічалось жодного з ДМН 3 ступеню, а при значеннях ЗОС вище за 6,7 мм³ визначено ДМН 1 або 2 ступеню. Для носіїв гетерозиготи G/T навпаки не визначено жодного з ДМН 1 або 2 ступеню, а при ЗОС вище 6,7 мм³ був визначений ДМН 3 ступеню. Для носіїв мінорної гомозиготи T/T при ЗОС вище за 6,7 мм³ визначений ДМН 1 або 2 ступеню, тоді як при ЗОС більше >8,7 мм³ був визначений ДМН 3 ступеню.

Ці дані підтвердили прямий зв'язок діабетогенного пошкодження сітківки з поліморфізмом rs2149356 – набряк сітківки був більше виражений за наявності поліморфної алелі T у гетерозигот та, особливо мінорних гомозигот.

Таким чином, у даному дослідженні не підтверджена асоціація поліморфізму rs2149356 гена TLR4 з розвитком таких очних ускладнень ЦД2, як ДР та ДМН. Тенденція до збільшення частоти мінорного генотипу T/T та позитивний вплив на ЦТС і ЗОС вказували на перспективних подальших досліджень з більшою кількістю спостережень.

TLR є тригерами вроджених і адаптивних імунних відповідей, що беруть участь у патогенезі ЦД2. Чисельні одонуклеотидні поліморфізми (SNP) TLR4 (rs1927911, rs11536889, rs1927907, rs1927906, rs1927914, rs7873784 і rs2149356) і TLR2 (rs1898830, rs3804099, 96480 і rs3804100) були генотиповані у 552 осіб з ЦД2 і 552 контролів [13]. Деякі з них (rs7873784 у TLR4, rs1898830 у TLR2) були ідентифіковані як захисні проти розвитку ЦД2 а деякі (rs1927911 і rs1927914 TLR4) зв'язку з ним не мали. На думку авторів, що підтверджують і наші результати, впливом нон-місценс-поліморфізмів, розташованих у регуляторних областях TLR4 і TLR2, на розвиток ЦД2 та його ускладнень не слід нехтувати, оскільки гірші фенотипічні прояви хвороби були притаманні носіям таких поліморфізмів, зокрема, як показано нами, – rs2149356 TLR4.

Загалом вважається, що мутації TLR, які відіграють важливу роль у індукції клітин вродженого імунітету, мають супресивну роль у імунних відповідях при ЦД2, що показано для TLR-2 del -196-174 [14]. Генетичні полі-

морфізми g.13726T>C і g.15090G>A гена TLR4 потенційно пов'язані зі схильністю до ЦД2 та можуть використовуватися як молекулярні маркери для оцінки ризику ЦД2 [15].

Різностямований характер зв'язку одиноких нуклеотидних поліморфізмів (SNP), які розташовані в генах TLR2 і TLR4, з виникненням грібкового кератиту також показано у популяції Хань [16]. Найбільши зв'язок було показано для rs10983755 TLR4, що розташований у 5'-нетрансльованій області (UTR) гена. Серед низки поліморфізмів, що розташовані у інтроні гена TLR4, з ЦД2 був найсильніше пов'язаний rs1927911 [17].

Таким чином, порушення процесів активації вродженої імунної системи через мутації генів TLR є важливим фактором патогенезу ЦД2 та його ускладнень, зокрема ДР [18]. При цьому поліморфізми не трансльованих ділянок TLR4 підтримують схильність до розвитку хронічного запалення при гіперглікемії.

Можливо припустити що носії поліморфної мутантної алелі T rs2149356 TLR4 мають більшу схильність до розвитку прозапальних змін у сітківці, що проявляється більш вираженим ДМН. Це припущення знайшло докази у даному дослідженні – у носіїв гетерозиготи і, особливо, мінорного генотипу T/T ЦТС і ЗОС були більш виражені і, крім того, мали чітку закономірність у носіїв різних генотипів – носії предкової гомозиготи не мали ДМН 3, а носії гетерозиготи – ДМН 1 і 2.

Виходячи з аналізу отриманих результатів, можна припустити, що активність прозапальних шляхів, які за умов гіперглікемії реалізуються через TLR4, збільшена у носіїв поліморфізму rs2149356 TLR4, що може сприяти більшому пошкодженню сітківки і розвитку ДМН.

ВИСНОВКИ

1. У даному дослідженні пацієнтів з ЦД2 не виявлено асоціації генетичного поліморфізму rs2149356 гена TLR4 з розвитком ДР та ДМН (p=0,326).
2. Стратифікація за стадіями ДР показала відсутність залежності розподілу генотипів, тоді як за ступенем ДМН розподіл генотипів достеменно відрізнявся при ДМН 3.

Серед носіїв предкового генотипу G/G не зустрічалось жодного з ДМН 3, межовий рівень ЗОС склав 6,7 мм³, вище якого визначено ДМН 1 або 2. Всі носії гетерозиготи G/T мали ДМН 3, а для носіїв мінорної гомозиготи T/T визначено два межових значення ЗОС: вище за 6,7 мм³ було визначено ДМН 1 або 2, а вище за 8,7 мм³ – ДМН 3.

3. Аналіз зв'язку поліморфізму rs2149356 TLR4 з фенотипом пацієнтів показав більші ЦТС і ЗОС у носіїв гетерозиготи та мінорної гомозиготи T/T, що відповідало більшому пошкодженню сітківки у порівнянні з носіями предкової гомозиготи G/G ($p < 0,001$).

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, Bikbov MM, Wang YX, Tang Y, Lu Y, Wong IY, Ting DSW, Tan GSW, Jonas JB, Sabanayagam C, Wong TY, Cheng CY. Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology*. 2021 Nov;128(11):1580-1591. DOI: 10.1016/j.ophttha.2021.04.027.
2. Ixamey M, Palma C. Diabetic macular edema. *Dis Mon*. 2021 May;67(5):101138. DOI: 10.1016/j.disamonth.2021.101138.
3. Wong TY, Cheung CM, Larsen M, Sharma S, Simó R. Diabetic retinopathy. *Nat Rev Dis Primers*. 2016 Mar 17;2:16012. DOI: 10.1038/nrdp.2016.12.
4. Bayan N, Yazdanpanah N, Rezaei N. Role of toll-like receptor 4 in diabetic retinopathy. *Pharmacol Res*. 2022 Jan;175:105960. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105960
5. Aghamiri SH, Komlakh K, Ghaffari M. The crosstalk among TLR2, TLR4 and pathogenic pathways; a treasure trove for treatment of diabetic neuropathy. *Inflammopharmacology*. 2022 Feb;30(1):51-60. DOI: 10.1007/s10787-021-00919-3
6. Wong YH, Wong SH, Wong XT, Yap QY, Yip KY, Wong LZ, Chellappan DK, Bhattamisra SK, Candasamy M. Genetic associated complications of type 2 diabetes mellitus. *Panminerva Med*. 2022 Jun;64(2):274-288. DOI: 10.23736/S0031-0808.21.04285-3
7. Rykov S., Ziablitsev S., Mogilevskyy S., Panchenko Iu., Biliaeva O., Lavryk N. The Role of Gene Polymorphisms rs1800629 TNF α and rs1800818 PDGFB in Relapses after Surgical Treatment of Diabetic Maculopathy. *Ophthalmology. Eastern Europe*. 2020;3(10):285-292. DOI: 10.34883/PI.2020.10.3.015
8. Zhang Y, Li H, Wang C, Lv H, Fu S. Toll like receptor 4 gene Asp299Gly polymorphism increases the risk of diabetic microvascular complications: a meta analysis. *Diabetol Metab Syndr*. 2022 Jun 7;14(1):79. DOI: 10.1186/s13098-022-00849-2
9. Buraczynska M, Zukowski P, Ksiazek K, Wacinski P, Dragan M. The effect of Toll-like receptor 4 gene polymorphism on vascular complications in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016 Jun;116:7-13. DOI: 10.1016/j.diabres.2016.04.002
10. Manolakis AC, Kapsoritakis AN, Tiaka EK, Sidiropoulos A, Gerovassili A, Satra M, Vamvakopoulou D, Tsiopoulos F, Papanas N, Skoularigis I, Potamianos SP, Vamvakopoulos N. TLR4 gene polymorphisms: evidence for protection against type 2 diabetes but not for diabetes-associated ischaemic heart disease. *Eur J Endocrinol*. 2011 Aug;165(2):261-7. DOI: 10.1530/EJE-11-0280
11. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs – an extension of the modified Airlie house classification: ETDRS report № 10. *Ophthalmology*. 2020 Apr;127(4S): 99-119. DOI: 10.1016/j.ophttha.2020.01.030
12. Гур'янов ВГ, Лях ЮЄ, Парій ВД, Короткий ОВ, Чалий ОВ, Чалий КО, Цехмістер ЯВ. Посібник з біостатистики. Аналіз результатів медичних досліджень у пакеті

- EZR (R-statistics). Київ: Вістка. 2018:208.
13. Huang WH, Nie LH, Zhang LJ, Jing LP, Dong F, Wang M, Zhang N, Liu Y, Zhang BH, Chen C, Lin HS, Wei XC, Yang G, Jing CX. Association of TLR2 and TLR4 non-missense single nucleotide polymorphisms with type 2 diabetes risk in a southern Chinese population: a case-control study. *Genet Mol Res*. 2015 Jul 31;14(3):8694-705. DOI: 10.4238/2015.July.31.18
 14. Ermiş Karaali Z, Candan G, Aktuğlu MB, Velet M, Ergen A. Toll-Like Receptor 2 (TLR-2) Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetes Mellitus. *Cell J*. 2019 Jan;20(4):559-563. DOI: 10.22074/cellj.2019.5540
 15. Lei T, Tang W, Xiong Y, Di Y, Zhang K, Shu X. Association of TLR4 gene polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes mellitus in the Chinese Han population. *Int Immunopharmacol*. 2015 Jan;24(1):68-71. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.11.007
 16. Wang N, Zhao GQ, Gao A, Che CY, Qu XL, Liu Y, Guo YL. Association of TLR2 and TLR4 gene single nucleotide polymorphisms with Fungal Keratitis in Chinese Han population. *Curr Eye Res*. 2014 Jan;39(1):47-52. DOI: 10.3109/02713683.2013.827212
 17. Xu Y, Jiang Z, Huang J, Meng Q, Coh P, Tao L. The association between toll-like receptor 4 polymorphisms and diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Br J Ophthalmol*. 2015 Sep;99(9):1301-5. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2015-306677
 18. Singh K, Kant S, Singh VK, Agrawal NK, Gupta SK, Singh K. Toll-like receptor 4 polymorphisms and their haplotypes modulate the risk of developing diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. *Mol Vis*. 2014 May 27;20:704-13.

Article history:

Received: 10.07.2023

Revision requested: 21.07.2023

Revision received: 09.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

TLR4 GENE POLYMORPHISM rs2149356 IN TYPE 2 DIABETES - POSSIBLE RELATIONSHIP WITH DIABETIC MACULAR EDEMA

Ivanyuta E. P.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Background. Polymorphisms in the non-coding regions of the TLR4 gene are known to be associated with the risk of ocular complications of type 2 diabetes (T2DM), with some polymorphisms having no association, others increasing the risk, and some reducing the risk of complications.

Aim: to establish the association of the TLR4 gene polymorphism rs2149356 with diabetic retinopathy (DR) and diabetic macular edema (DME) in T2DM.

Materials and methods. The study included 81 patients (81 eyes) with T2DM, in whom, according to the guidelines of the American Academy of Ophthalmology (2002), DR and DME were detected, the control group consisted of 50 patients (50 eyes) with T2DM, normalized carbohydrate metabolism, DR 0 (no retinopathy) and absent DME. Genotypes of rs2149356 were determined by real-time polymerase chain reaction using the Gene Amp® PCR System 7500 amplifier (Applied Biosystems, USA) and TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (USA). MedStat and MedCalc v.15.1 software packages (MedCalc Software bvba) were used for statistical research.

Results. In this study, no association of the genetic polymorphism rs2149356 of the TLR4 gene with the development of DR and DME in T2DM was found ($p=0.326$). Stratification by stages of DR showed no dependence of the distribution of genotypes, while according to the degree of DME, the distribution of genotypes was definitely different in DME 3. Thus, among the carriers of the ancestral genotype G/G, none of DME 3 was found, the borderline level of the total retinal volume (TRV) was 6.7 mm³, above which DME 1 or DME 2 was determined. All carriers of the heterozygote G/T had DME 3, and for carriers of the minor homozygote T/T, two threshold values of TRV were determined: above 6.7 mm³, DME 1 or DME 2 was determined, and higher than 8.7 mm³ – DME 3. Analysis of the relationship between the rs2149356 TLR4 and the phenotype of patients showed greater central retinal thickness and TRV in heterozygous and minor homozygous T/T carriers, which corresponded to greater retinal damage compared to ancestral homozygous G/G carriers ($p<0.001$).

Conclusion. Data were obtained on the association of diabetic retinal damage with the rs2149356 TLR4 – retinal edema was more pronounced in carriers of the T allele.

Key words: total retinal volume, edema, threshold level.

МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ МОСТА ПЛОДА ЛЮДИНИ 17–18 ТИЖНІВ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО РОЗВИТКУ

Лопаткіна О.П. <https://orcid.org/0000-0003-1277-5180>

Тихолаз В.О. <https://orcid.org/0000-0002-9650-9834>

Школьніков В.С. <https://orcid.org/0000-0001-8233-1863>

*Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова,
Вінниця, Україна*

lopatkinaksyusha@gmail.com

Актуальність. В даний час підвищений інтерес спостерігається до ранніх етапів постнатального онтогенезу при дослідженні вікових змін фізіологічних систем організму людини.

Ціль: Встановити макрометричні параметри моста плодів людини 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку, розмірів та площі ядер черепних нервів які містяться в мосту, а також розмірів та площі нервових клітин, які формують дані ядра.

Матеріали та методи. Нами проведено анатомо-гістологічне дослідження 10 плодів людини на стадії 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку.

Результати: Межі ядра відвідного нерва нечіткі, нейрони ядра кулястої або округлої форми. Присінкове ядро присінково-завиткового нерва має невизначену форму, межі ядра нечіткі, відмічаються нейрони з різною площею ядра, від великої до малої. Рухове ядро лицевого нерва має видовжену форму, з нечіткими зовнішніми краями, нервові клітини куполоподібної форми. Головне ядро трійчастого нерва має округлу форму.

Висновки: Нами встановлено, що на 17–18 тижні внутрішньоутробного розвитку плодів людини візуалізувалися ядра відвідного нерва, рухового ядра лицевого нерва, головного ядра трійчастого нерва та присінкового ядра присінково-завиткового нерва. Найбільшу площу має ядро відвідного нерва, найменшу – присінкове ядро присінково-завиткового нерва. Встановлена найбільша площа нейронів присінкового ядра в порівнянні із площею ядра лицевого, трійчастого та відвідного нервів. Діаметр та площа ядер клітин відвідного нерва, рухового ядра лицевого нерва та головного ядра трійчастого нерва мають майже однакові розміри, тоді як площа нейронів присінково-завиткового нерва різна, є група нейронів з великою площею, а є група з значно меншою площею нейронів.

Ключові слова: міст, ядра моста, морфометричні параметри, пренатальний період.

Актуальність. В Україні перше місце серед захворювань плодів людини, згідно даних державної статистики, займають вроджені вади розвитку центральної нервової системи, які становлять 10–30 % усієї вродженої патології [21]. В зв'язку з цим, згідно публікацій вітчизняних та закордонних наукових джерел вади розвитку нервової системи являють собою актуальну проблему сучасної медицини і примушують до проведення нових наукових досліджень [22].

Подальше поглиблене вивчення морфо- та гістогенезу центральної нервової системи плода людини на різних термінах гестації надасть змо-

гу пояснити аномалії розвитку ЦНС: вроджені аномалії та деформації, які глибоко вкорінені в процеси раннього ембріогенезу [4, 13].

В даний час підвищений інтерес спостерігається до ранніх етапів постнатального онтогенезу при дослідженні вікових змін фізіологічних систем організму людини [7], тому що в ранньому пренатальному періоді розвитку активно відбуваються процеси гісто- та органогенезу і вплив будь-якого екзо- або ендогенного чинника може спричинити виникнення мальформацій. Структури стовбури мозку, до якого відноситься також і міст беруть участь у регуляції м'язової активності. Порушення

нормального розвитку стовбура мозку, яке виявляється у недоношених дітей проявляється тим, що їх рухова активність характеризується спонтанністю і не координованістю [24].

Череп людини починає свій розвиток на 23–26 добу після запліднення, клітини краніального нервового гребня мігрують з дорзальної частини нервової трубки в ділянку голови, розвивається лобова і міжпарієтальна частина потиличної кістки, інші кістки склепіння черепа розвиваються з мезодерми [23]. До 10 тижня внутрішньоутробного розвитку обличчя має типовий людський вигляд. У процесі пренатального онтогенезу більшими стають поперечні та поздовжні розміри, окружність, а також висота голови. Diewert V.M. (1985) проводив морфометричну оцінку ембріонів і плодів людини 7 та 10 тижнів внутрішньоутробного розвитку та вказав, що структури обличчя зростають переважно в сагітальній площині в чотири рази, висота голови збільшувалася в два рази, але ширина голови майже не змінилася [2].

Процеси розвитку моста виявляються вже на 7 тижні вагітності [11], чітко візуалізуються в цей термін гестації ядра трійчастого нерва, ядро відвідного, лицевого та присінково-завиткового нервів, а також виявляються ядра моста, які передають сигнали від головного мозку до мозочка [1, 17].

Даних щодо досліджень морфометрії та гістогенезу моста у літературних джерелах небагато. Протягом другого місяця внутрішньоутробного розвитку клітини моста, які охоплюють епендимальну зону та крайову зону, мігрують і займають своє положення на 12 тижні внутрішньоутробного розвитку [12].

У низці наукових досліджень вказується на те, що на 20 тижні вагітності можна ідентифікувати масу клітин, які розташовані латеральніше ядра лицевого нерва та медіально від ядра присінково-завиткового нерва і являються ядрами відвідного нерва. Ріст цього ядра збільшується від 20 до 40 тижнів гестації [16].

У своїх дослідженнях Т. Nara (1989) вивчав розвиток ядра лицевого нерва у плодів людини на 21, 23, 27, 30, 33, 34, 35 і 40 тижнях вагітності. За його даними розміри нейронів поступово

збільшувалися після 30 тижня вагітності [10]. Морфометричний аналіз моста плодів людини 12–40 тижнів гестації показав, що контури латерального вестибулярного ядра присінково-завиткового нерва почали з'являтися після 16 тижня гестації [3], а розвиток вентрального завиткового ядра та верхнього ядра оливи на 18–21 тижні. Форма нейронів була різною, кількість тілець Ніссля збільшувалася поступово [8, 9].

Площа нейронів середньомозкового ядра трійчастого нерва поступово збільшується з гестаційним віком, різноманітність нейронних ділянок з'являється після 32 тижня вагітності, але кількість і форма нейронів мало змінюється протягом внутрішньоутробного розвитку людини [5]. Нейрони головного ядра трійчастого нерва дозрівають приблизно на 33 тижні внутрішньоутробного розвитку, щільність нейронів зменшується з гестаційним віком [6, 14, 18].

Оскільки в більшості наукових праць описані дослідження ядер черепних нервів або структур мозку в період внутрішньоутробного розвитку лише на тваринах та пізніх строках внутрішньоутробного розвитку людини, часто базуються на ембріологічних книгах і дослідженнях понад 100 років тому назад, які здебільшого базувалися на сукупності ембріологічних даних тварин і людини і більше не можуть бути перевірені [15], виникла потреба у більш детальному дослідженні гістологічної структури та топографії нейронних комплексів моста для встановлення його будови, розмірів та площі ядер у плодів в різні терміни гестації.

Отже, метою даної роботи є встановлення макрометричних параметрів голови плодів людини 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку, моста, розмірів та площі ядер черепних нервів (V, VI, VII, VIII пари), які містяться в мості, а також розмірів та площі нервових клітин, які формують дані ядра.

Ціль: Проведено анатомо-гістологічне дослідження 10 плодів людини. Термін гестації – 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку. Тім'яно-куприкова довжина $157,2 \pm 7,9$ мм, вага плода – $259,4 \pm 12,9$ г.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Матеріал для дослідження був отриманий внаслідок пізніх абортів в Обласному патологоанатомічному бюро м. Вінниці, після чого фіксований 10 % нейтральним розчином формаліну. Аномалії розвитку ЦНС були відсутні. Із виготовлених парафінових блоків проводили горизонтальні серійні зрізи моста товщиною 8–9 мкм. Препарати забарвлювали гематоксилін-еозином. Отримані препарати оцінювали візуально за допомогою мікроскопа МБС-9 та Euromex iScore series, відеозахват виконували камерою Euromex Microscopen B.V. DC. 1359 F 100. Були використані наступні збільшення: x1, x4, x10, x40, x100, x400. Під час морфометричного дослідження застосовували комп'ютерну гістометрію (TouchView).

Макрометричне дослідження моста проводили за допомогою штангенциркуля ШЦ-125. Висоту моста визначали від цибулинно-мостової борозни до борозни, яка відділяє міст від ніжок середнього мозку; поперечний розмір (ширину) – від найбільш виступаючої точки одного мосто-мозочкового кута до іншого; поздовжній розмір (товщину) – від найбільш виступаючої точки задньої поверхні моста до найбільш виступаючої точки передньої поверхні моста [20].

Препарат моста пошарово розрізали на два однакових за розмірами фрагмента посередині основної борозни.

Розміри ядер моста визначали за допомогою комп'ютерної гістометрії. Площу ядер визначали по периметру ядра, який проводили по контуру нейробластів, розташованих по периферії ядра, а саме по їх зовнішньому контуру, з визначенням їх середнього значення.

На серійних зрізах моста за допомогою мікроскопічного дослідження були досліджені наступні параметри: площа ядра відвідного нерва, рухового ядра лицевого нерва, головного ядра трійчастого нерва та площа присінкового ядра присінково-завиткового нерва; площу нейронів відповідних ядер, діаметр та площа ядер клітин.

Цифрові дані були опрацьовані статистично за допомогою програмного за-

безпечення «Statistica 6.1» (ліцензійний №BXXR901E246122FA) та на персональному комп'ютері за допомогою Microsoft Excel 2016.

Згідно Висновку комісії з питань біомедичної етики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (Витяг з протоколу засідання Комітету біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова № 10 від 23.11.2017 р.) робота виконана з дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції про захист прав та гідності людини у зв'язку із застосуванням досягнень біології та медицини (1996) та матеріали дослідження не заперечують основним біоетичним нормам Гельсінської декларації про етичні принципи проведення науково-медичних досліджень за участю людини прийнятої 59-ою Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації у 2008 році.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Окружність голови $154,4 \pm 7,72$ мм, висота голови $57,74 \pm 2,89$ мм, поперечний розмір голови $46,56 \pm 2,33$ мм, поздовжній розмір голови $58,8 \pm 2,94$ мм. Розміри переднього тім'ячка: поздовжній $26,5 \pm 1,32$ мм, поперечний – $19,57 \pm 0,98$ мм. Розміри заднього тім'ячка: поздовжній $10,71 \pm 0,53$ мм, поперечний – $11,1 \pm 0,55$ мм.

Макрометричні параметри моста плодів людини 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку: висота – $7,77 \pm 0,38$ мм, поздовжній розмір – $7,67 \pm 0,38$ мм, поперечний розмір – $10,4 \pm 0,52$ мм. Вага моста становила $6,12 \pm 0,31$ г.

Межі ядра відвідного нерва у плодів 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку нечіткі, площа складає $0,734 \pm 0,04$ мм². Нейрони ядра відвідного нерва кулястої або округлої форми. Площа нейронів становила $272,94 \pm 13,65$ мкм². Діаметр ядра клітини становить $7,5 \pm 0,37$ мкм, площа – $59,72 \pm 2,97$ мкм² (рис. 1). Ядра клітин відвідного нерва мають майже однаковий діаметр та площу. Встановлені нами розміри та форма нейронів підтверджують дослідження Katsuyuki Yamaguchi (2012), який вказав те, що у плодів людини в термінах 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку нейрони ядра відвідного нерва різних розмірів і форм, більші нейрони розташовуються ближче до центру ядра [19].

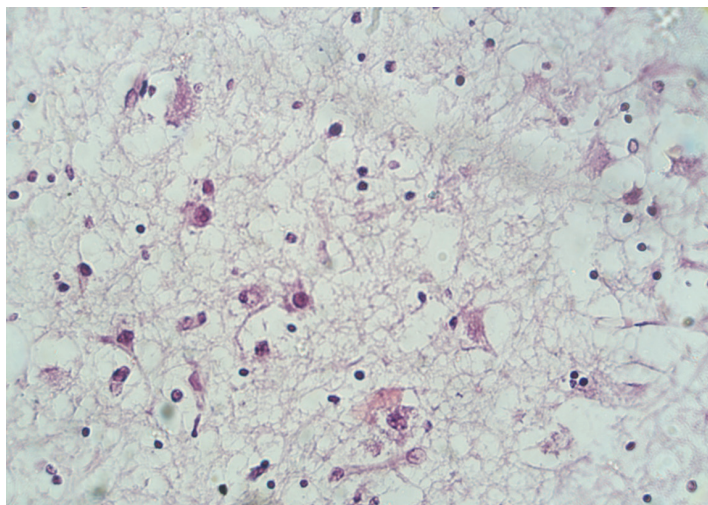


Рис. 1. Міст плода людини 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку, Гематоксилін-еозин, Х40;
1, 2 – нейрони ядер відвідного нерва

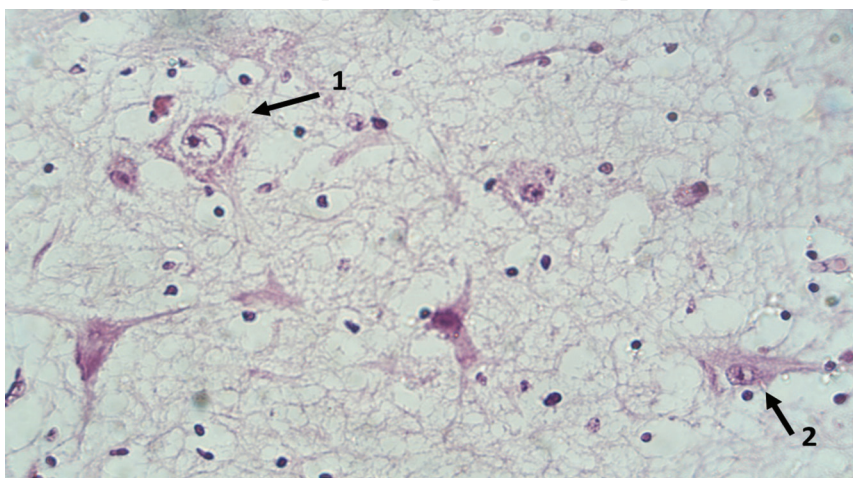


Рис. 2. Міст плода людини 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку, Гематоксилін-еозин, Х40;
1 – нейрони присінкового ядра з більшою площею, 2 – нейрони присінкового ядра з меншою площею

Присінкове ядро присінково-завиткового нерва у плодів 17–18 тижнів розташовується латеральніше від ядра відвідного нерва, має невизначену форму, межі ядра не чіткі, площа його дорівнює $0,233 \pm 0,011 \text{ мм}^2$. Площа нейронів в середньому $1033,487 \pm 51,67 \text{ мкм}^2$, але відмічаються нейрони з різною площею ядра, від великої площі $1353,674 \pm 67,68 \text{ мкм}^2$, до малої $800,71 \pm 40,03 \text{ мкм}^2$ (рис. 2). Одна група нейронів сформована, інша має не диференційовані гліальні клітини, які ймовірно в подальшому диференціюються в нейрони. Діаметр ядра клітини становить $14,12 \pm 0,71 \text{ мкм}$, а площа $191,64 \pm 9,58 \text{ мкм}^2$. У дослідженнях присінкового ядра плодів людини Fujii M. (1997) показав, що присінкове ядро, нейрони якого відрізнялися від гліальних клітин на 16 тижні гестації, цитоархітектонічно розділяється на 21 тижні

на медіальне та латеральне, а також він встановив помірний розвиток нейронів даного ядра, які мали різну форму і розміри [3].

Рухове ядро лицевого нерва розташоване глибше по відношенню до ядра відвідного нерва та ближче до трапецієподібного тіла. Ядро має видовжену форму, з нечіткими зовнішніми краями. Площа його дорівнює $0,296 \pm 0,015 \text{ мм}^2$. Площа нейрона складає $401,413 \pm 20,07 \text{ мкм}^2$. Нервові клітини ядра лицевого нерва куполоподібної форми. Діаметр ядра клітини $6,72 \pm 0,34 \text{ мкм}$, площа – $55,142 \pm 2,76 \text{ мкм}^2$. Nara T. (1989) та Rao B.N. (2009) досліджували ядра лицевого нерва, форма яких була від округлої до веретеноподібної та куполоподібної [10, 12], що підтверджується і нашими дослідженнями.

Головне ядро трійчастого нерва, яке є за функцією чутливе, розташовується латеральніше від рухового ядра лицевого нерва. Контури ядра мають округлу форму, площа його становить $0,319 \pm 0,016 \text{ мм}^2$. Площа нейрона становила $333,304 \pm 16,66 \text{ мкм}^2$. Діаметр ядер клітини $7,86 \pm 0,39 \text{ мкм}$, площа – $52,21 \pm 2,61 \text{ мкм}^2$. Головне ядро трійчастого нерва згідно дослідження Hamano S.I. (1997) не визначалося на 12 тижні внутрішньоутробного розвитку, тільки Нисся було важко виявити в нейронах 16, 18, 21 і 23 тижнів. Такі нейрони мали майже округлу форму, не мали відростків, містили відносно великі ядра [6].

Між ядром відвідного нерва та присінковим ядром присінково-завиткового нерва гістологічного дослідження моста плодів 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку відмічається значне скупчення гліальних клітин, що ймовірно призведе до формування рухового ядра трійчастого нерва.

ВИСНОВКИ

1. На 17–18 тижні внутрішньоутробного розвитку плодів людини візуалізувалися ядра відвідного нерва, рухового ядра лицевого нерва, головного ядра трійчастого нерва та присінкового ядра присінково-завиткового нерва.

2. Найбільшу площу має ядро відвідного нерва ($0,734 \pm 0,04 \text{ мм}^2$), найменшу – присінкове ядро присінково-завиткового нерва ($0,233 \pm 0,011 \text{ мм}^2$).

3. Присінкове ядро присінково-завиткового нерва на 17–18 тижні гестації не розділене на латеральне і медіальне. Встановлена найбільша площа нейронів присінкового ядра ($1353,674 \pm 67,68 \text{ мкм}^2$) в порівнянні із площею ядра лицевого ($401,413 \pm 20,07 \text{ мкм}^2$), трійчастого ($333,304 \pm 16,66 \text{ мкм}^2$) та відвідного нервів ($272,94 \pm 13,65 \text{ мкм}^2$).

4. Діаметр та площа ядер клітин відвідного нерва, рухового ядра лицевого нерва та головного ядра трійчастого нерва мають майже однакові розміри, тоді як площа нейронів присінково-завиткового нерва різна, є група нейронів з великою площею, а є група з значно меншою площею нейронів.

В подальшому планується дослідити гістологічні зрізи препаратів моста плодів людини та встановити цитоархітекtonіку старших вікових груп.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Ajeigbe, S. O., Muazu, T. A., & Nzalak, J. O. Histomorphological Study of The Pons and Medulla Oblongata of African Striped Group Squirrel (*Xerus erythropus*). *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*. 2021, 52 (3), 361–372. DOI: 10.21608/ejvs.2021.75614.1232
2. Diewert, V. M. Development of human craniofacial morphology during the late embryonic and early fetal periods. *American journal of orthodontics*, 1985, 88(1), 64–76. DOI: 10.1016/0002-9416(85)90107-1
3. Fujii, M., Goto, N., & Onagi, S. Development of the human lateral vestibular nucleus: a morphometric evaluation. *Early human development*. 1997, 48 (1-2), 23–33. DOI: 10.1016/S0378-3782(96)01800-2
4. Gorbunov, A., Parshin, D., & Shishkina, Z. Basilar artery of the human embryo: the beginning of formation. *MORPHOLOGY, PATHOLOGY, PHYSIOLOGY*. 2022, 12; 6: e1. DOI: 10.35630/2022/12/6.6.
5. Hamano, S. I., Goto, N., & Nara, T. Development of the human mesencephalic trigeminal nucleus: a morphometric study. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 1990, 32 (7), 621–628. DOI: 10.1111/j.1469-8749.1990.tb08546.x
6. Hamano, S. I., Goto, N., & Nara, T. Development of the human principal sensory trigeminal nucleus: a morphometric analysis. *Early human development*, 1997, 48 (3), 225–235. DOI: 10.1016/S0378-3782(96)01859-2

7. Lavezzi, A. M., Alfonsi, G., & Pusioli, T. Decreased argyrophilic nucleolar organiser region (AgNOR) expression in Purkinje cells: first signal of neuronal damage in sudden fetal and infant death. *Journal of Clinical Pathology*, 2016, 69 (1), 58–63. DOI: 10.1136/jclinpath-2015-202961
8. Mishra, S., Roy, T. S., & Wadhwa, S. Morphological and morphometrical maturation of ventral cochlear nucleus in human foetus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2018, 93, 38–47. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2017.03.002
9. Nara, T., Goto, N., & Hamano, S. Morphometric development and the variability of neurons of the human auditory system: ventral cochlear nucleus and superior medial olivary nucleus. *No to Hattatsu= Brain and Development*, 1999, 31 (6), 525–530. DOI: 10.11251/ojjsn1969.31.525
10. Nara, T., Goto, N., & Nozaki, H. Development of the human facial nucleus: a morphometric study. *No to Hattatsu=Brain and Development*, 1989, 21 (5), 453–459.
11. Padmini, M. P., & Rao, B. N. A study on morpho-histogenesis of human fetal pons. *Indian Journal of Clinical Anatomy and Physiology*, 2019, 6 (1), 41–44. DOI: 10.18231/2394-2126.2019.0010
12. Rao, B. N., & Padmini, M. P. (2009). Histogenesis Of Neurons In The Nucleus Of Facial Nerve-A Study In. *J. Anat. Soc. India*, 58 (2), 135–139.
13. Sarnat, H. B. Transitory and Vestigial Structures of the Developing Human Nervous System. *Pediatric Neurology*, 2021, 123, 86–101. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2021.07.003
14. Setoyama, S., Zhou, M., & Goto, N. Morphometric comparison of the motor trigeminal neurons. *Okajimas Folia Anatomica Japonica*, 1997, 73 (6), 301–312. DOI: 10.2535/ofaj1936.73.6_301
15. Smit, J. A., Jacobs, K., Bais, B. A three-dimensional analysis of the development of cranial nerves in human embryos. *Clinical Anatomy*, 2022, 35 (5), 666–672. DOI: 10.1002/ca.23889
16. Somani, A. N., & Adesina, O. O. (2021). *Neuroanatomy, Abducens Nucleus*. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
17. Srivastava, G. BOOK REVIEW: LANGMAN'S MEDICAL EMBRYOLOGY BY TW SADLER. *Era's Journal of Medical Research*, 2018, 5 (1), 86–86. DOI: 10.24041/ejmr2018.70
18. Starchenko, I., Prylutskyi, O., & Bilokon, S. Morphological and immunohistochemical characteristics of human trigeminal ganglion neurons in the prenatal period of development. *Wiad Lek*, 2017, 70, 561–5. Available on: <http://repository.pdmu.edu.ua/handle/123456789/5480>
19. Yamaguchi, K., & Honma, K. Development of the human abducens nucleus: a morphometric study. *Brain and Development*, 2012, 34 (9), 712–718. DOI: 10.1016/j.braindev.2011.12.009
20. Колесник, В. В., & Олійник, І. Ю. Діагностичне значення методів дослідження для вивчення морфологічної перебудови структур головного мозку людини. *Науковий вісник Ужгородського університету. Сер.: Медицина*, 2013, (3), 238–243. Available on: <http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/20125>
21. Колесник, В. В., Олійник, І. Ю., & Коваль, Ю. І. Методологія морфологічного дослідження головного мозку плодів і новонароджених. *Клінічна та експериментальна патологія*, 2011, 3 (37), 96–99. Available on: <http://dspace.bsmu.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/2491>
22. Хмара, Т. В., Кузняк, Н. Б., & Морараш, Ю. А. Онтологія варіантів будови та вад розвитку черепа. Частина І. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 2021, Том 6, № 2 (30), 20–30. DOI: 10.26693/jmbs06.02.020
23. Школьніков, В. С., & Грищенко, Ю. В. Морфометричні параметри середнього мозку плодів людини 12–13 тижнів внутрішньоутробного розвитку. *Вісник морфології*, 2017, 23 (1), 40–43. Available on: <https://dspace.vnmue.edu.ua/123456789/2667>

Article history:

Received: 10.06.2023

Revision requested: 12.06.2023

Revision received: 15.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

**MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE HUMAN FETUS PONS
17–18 WEEKS OF INTRAUTERINE DEVELOPMENT**

Lopatkina O.P., Tykholaz V.O., Shkolnikov V.S.

Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University

lopatkinaksyusha@gmail.com

Background. Currently, increased interest is observed in the early stages of postnatal ontogenesis in research of age-related changes in the systems of the human body.

Aim: To define the macrometric parameters of the pons of human fetuses of 17–18 weeks of fetal development, the sizes and area of the cranial nerve nuclei contained in pons, as well as the size and area of the nerve cells that form these nuclei.

Materials and methods: We performed an anatomical and histological examination of 10 human fetuses at the stage of 17–18 weeks of intrauterine development.

Results: The boundaries of the nucleus of the abductor nerve are unclear, the neurons of the nucleus are spherical or rounded in shape. The vestibular nucleus of the vestibulocochlear nerve has an indeterminate shape, the boundaries of the nucleus are not clear, neurons with different areas of the nucleus are noted, from large to small. The motor nucleus of the facial nerve has an elongated shape, with not clear outer edges, the nerve cells are dome-shaped. The principal nucleus of the trigeminal nerve has a rounded shape.

Conclusions: We established that at 17–18 weeks of intrauterine development of human fetuses, the nucleus of the abductor nerve, the motor nucleus of the facial nerve, the principal nucleus of the trigeminal nerve, and the vestibular nucleus of the vestibulocochlear nerve were visualized. Nucleus of the abductor nerve has the largest area, the smallest - has the vestibular nucleus of the vestibulocochlear nerve. The largest area of neurons of the vestibular nucleus was established in comparison with the area of the nucleus of the facial, trigeminal and abductor nerves. The diameter and area of the nuclei of the cells of the abductor nerve, the motor nucleus of the facial nerve, and the principal nucleus of the trigeminal nerve have almost the same size, while the area of the neurons of the vestibulocochlear nerve is different, there is a group of neurons with a large area, and there is a group with a much smaller area of neurons.

Key words: pons, nuclei of the pons, morphometric parameters, prenatal period.

ВПЛИВ ОЖИРІННЯ НА ТЯЖКІСТЬ ПЕРЕБІГУ КОРОНАВІРУСНОЇ ХВОРОБИ (COVID-19) (клінічний випадок)

Москалюк В.Д. <https://orcid.org/0000-0002-4104-8153>

Бойко Ю.І. <https://orcid.org/0000-0001-6542-6844>

Колотило Т.Р. <https://orcid.org/0000-0002-0821-7904>

Чернецька Н.В. <https://orcid.org/0000-0002-5156-1313>

Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна

taniakolotylo15@gmail.com

Ціль. Провести ретроспективний аналіз впливу ожиріння на тяжкість перебігу COVID-19 на підставі аналізу карти стаціонарної хворої, яка знаходилась на лікуванні в інфекційному підрозділі ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня».

Матеріали та методи. «Медична карта стаціонарного хворого» пацієнтки, яка перебувала на стаціонарному лікуванні в інфекційному підрозділі ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня».

Результати. Пацієнтка з ожирінням (ІМТ 40,0 кг/м²) 42 років у тяжкому стані поступила на приймальний покій інфекційного підрозділу ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня» на 5 день хвороби. В стаціонарних умовах одразу розпочато кисневу терапію (потік 3 л/хв), призначено антибіотикотерапію (цефепім – 1 г 3 р/добу), гормонотерапію (дексаметазон – 8 мг 1 р/добу). На 26 день інтенсивного лікування стан хворої значно погіршився. Стан свідомості порушився до рівня сопор, а потім наступила кома. Відмічались нестабільність гемодинаміки, що потребувало медикаментозної підтримки (дофамін). Хворій проведена ендотрахеальна інтубація та проводилась ШВЛ. Незважаючи на всі застосовані заходи наступила зупинка серцевої діяльності. Реанімаційні заходи, які проводились, бажаного ефекту не дали і констатовано смерть хворої.

Висновок. У пацієнтів з ожирінням (ІМТ > 40) COVID-19 перебігає значно тяжче, порівняно із пацієнтами, в яких маса тіла в межах допустимих норм. Також надмірна маса тіла значно підвищує ризик ускладнень у хворих на COVID-19, викликану Sars-Cov2, та частіше призводить до летального наслідку.

Ключові слова: Коронавірусна хвороба (COVID-19), ожиріння, тяжкий перебіг.

Актуальність. Згідно з дослідженнями, у пацієнтів із зайвими кілограмами більше супутніх захворювань, таких як серцево-судинна патологія, порушення ендокринної системи, хвороби дихальних шляхів, неврологічні захворювання. Подібні розлади вже є тригерами розвитку вірусних захворювань, оскільки безпосередньо впливають на якість роботи імунної системи [1; 2].

За даними експертів, рівні рецепторів ACE2, які коронавірус SARS-CoV-2 використовує для доступу до клітин, особливо високі в жировій тканині, що піддає людей з надмірною вагою більшому ризику зараження [3; 4].

Крім того, у пацієнтів з ожирінням часто відзначається хронічне запалення в організ-

мі, що негативно впливає на імунну відповідь щодо COVID-19 [5; 6].

Ціль. Провести ретроспективний аналіз впливу ожиріння на тяжкість перебігу COVID-19 на підставі аналізу карти стаціонарної хворої, яка знаходилась на лікуванні в інфекційному підрозділі ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

«Медична карта стаціонарного хворого» пацієнтки, яка перебувала на стаціонарному лікуванні в інфекційному підрозділі ОКНП «Чернівецька обласна клінічна лікарня».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

42-річна жінка із ожирінням (ІМТ 40,0 кг/м²) звернулася у приймальне відділення інфекційного підрозділу м. Чернівці у зв'язку з підвищенням температури тіла, яке зберігалось протягом 5-ти діб, сухого кашлю, задишки, що турбувала у стані спокою, слабкості в кінцівках. Висловлювала скарги на біль голови та головокружіння, пітливість. Зі слів хворої, хворіє впродовж 5 діб. Вакцинальний статус – не вакцинована проти SARS Cov-2. На момент поступлення у лікарню стан пацієнтки тяжкий, зумовлений дихальною недостатністю. Насичення гемоглобіну артеріальної крові киснем, за даними пульсоксиметрії (SpO₂), становило 63%, частота серцевих скорочень 94 уд/хв, температура тіла – 36,7°C, частота дихальних рухів збільшена до 23/хв, а над легеньми вислуховувалось жорстке дихання та сухі хрипи. Артеріальний тиск становив 110/70 мм рт. ст. Аускультативно тони серця аритмічні.

Під час лабораторних досліджень отримано наступні результати: концентрація та число лейкоцитів – 13,8×10³/мкл (норма: 4,0-10,0), нейтрофільні палички – 13 %, глюкоза – 29,7 ммоль/л, сечовина – 21,8 ммоль/л, креатинін – 293,0 ммоль/л, концентрація Д-димеру плазми крові – 0,61 мг/л (0,0-0,5 мг/л). Відповідно до діючих на той час клінічних рекомендацій, пацієнтка поступила в інфекційне відділення, оскільки мала клінічні симптоми та повідомляла про тісний контакт з особою з підтвердженим зараженням SARS-CoV-2 протягом останніх 14-ти днів. Проведено забір матеріалу з носоглотки, підтверджено інфекцію, викликану SARS-CoV-2, за допомогою ЗТ-ПЛР.

Одразу розпочато кисневу терапію (потік 3 л/хв), призначено антибіотикотерапію (цефепім – 1 г 3 р/добу), гормонотерапію (дексаметазон – 8 мг 1 р/добу).

На 2-у добу стаціонарного лікування стан хворої погіршився, посилилася задишка, незважаючи на кисневу терапію (SpO₂ – 56 %). Хвора була у свідомості, проте продуктивний контакт обмежений, відмічалось оглушення. Гемодинаміка була стабільною з тенденцією до гіпертензії. Артеріальний тиск становив 120/90

мм рт. ст., виникла тахікардія (106 уд/хв). Температура тіла зберігалась на рівні субфебрильних цифр. У зв'язку з погіршенням самопочуття, хвору переведено у підрозділ анестезіології та інтенсивної терапії. Одразу хвору перевели на дотацію зволоженого O₂ 10 л/хв за допомогою СРАР-маски (SpO₂ становило 85-90 %).

Під час аускультативної легень жорстке дихання, ослаблене в нижніх відділах. Частота дихальних рухів становила 28/хв.

На рентгенографії грудної клітки описано ущільнення запального характеру з обох боків легень на всьому протязі.

У лабораторних дослідженнях число лейкоцитів 21,04×10⁹/мкл, паличкоядерні – 19%, лімфоцити – 2%, концентрація гемоглобіну – 154 г/л, ШОЕ – 58 мм/год за Панченковим, сечовина – 31,5 ммоль/л, креатинін – 236 мкмоль/л, рівень глюкози – 28,6 ммоль/л, фібриноген – 10 г/л (в нормі – 2,2-4,4 г/л), АЧТЧ – 23,1 (в нормі – 23-35).

Лікування: санпімо/цефепім по 1 г через кожні 8 год, клексан 0,8 мл п/ш 1 р/добу, жарознижувальні – інфулган (при підвищенні температури тіла вище 38 °C), гормонотерапія – дексаметазон 4 мг через 8 год, лазолван 2 мл, тризипін (500 мг 2 р/добу), а також проводилась корекція глікемії інсуліном.

У наступні дні у пацієнтки стан тримався стабільно тяжким за рахунок дихальної недостатності. Через тиждень з'явилася негативна динаміка через наростаючу дихальну недостатність. У хворої порушень свідомості не відмічалось, гемодинаміка залишалась стабільною, діурез збережений, набряків не було. Лабораторні дослідження: гемоглобін – 135 г/л, лейкоцити – 16,0 г/л, ШОЕ – 60 мм/год, паличкоядерні – 14 %, гематокрит – 43,4 %, лімфоцити – 5 %, протромбіновий індекс – 72,7 %, фібриноген – 15,2 г/л, прокальцитонін (PCT) – 0,4 нг/мл (нормальний діапазон – 0,0-0,5 нг/мл). Температурна крива трималась на рівні субфебрильних показників. Вирішено змінити антибіотик на меропенем 1 г через 6 год, замінено клексан на гепарин 30 тис. ОД зі швидкістю 0,83/год, додано до лікування ліпін 0,5 г 1 раз на добу, флороспорин по 1 флакону 2 р/добу, седативні засоби (кванадекс – 0,7

мкг/кг/год). Продовжувалась гормонотерапія (солу-медрол – 80 г 2 р/добу) та проводилась дотація O₂ за допомогою ШВЛ у режимі CPAP (FiO₂ – 100 %, SpO₂ – 93 %). Через обмежений периферичний венозний доступ для проведення інфузійної терапії та контролю ЦВД хворій виконана пункція та катетеризація центральної вени (права внутрішня яремна вена).

Надалі стан пацієнтки залишався стабільно тяжкий, відмічалось зниження SpO₂ до 84-88 %, ЧД становила 26-28-30 дихальних рухів/хв. На повторній рентгенографії легень відмічено ущільнення легеневої паренхіми на всьому протязі з обох боків.

На 26 день інтенсивного лікування стан хворої значно погіршився. Стан свідомості порушився до рівня сопор, а потім наступила кома I. Відмічались нестабільність гемодинаміки, що потребувало медикаментозної підтримки (дофамін). Хворій проведена ендотрахеальна інтубація та проводилась ШВЛ.

Незважаючи на всі застосовані заходи наступила зупинка серцевої діяльності. Реанімаційні заходи, які проводились, бажаного ефекту не дали і констатовано смерть хворої.

Згідно протоколу патологоанатомічного дослідження встановлено патологоанатомічний діагноз:

Основний: Двобічна тотальна пневмонія, спричинена COVID-19. Гострий серозно-геморагічний трахеобронхіт.

Ускладнення: Респіраторний дистрес-синдром дорослих. Гіалінові мембрани легень. Гостра вогнищева емфізема легень. Проміжний серозний міокардит, нефрит, гепатит. Токсико-інфекційний шок. Розлади периферичного кровообігу. Масивний канальцевий нефронекроз, централобулярні некрози печінки, некоронарогенне ушкодження міокарда. Гостра легенево-серцева недостатність. Гіперплазія лімфоїдної пульпи селезінки. Дистрофічні зміни паренхіматозних органів.

Супутній: Симптоматична артеріальна гіпертензія. Гіпертрофія стінки лівого шлуночка (2 см). Опасистість II. Цукровий діабет, II тип. Склероз та атрофія острівцевого апарату підшлункової залози.

Таким чином, проведений аналіз свідчив про вищий ризик тяжкого перебігу COVID-19

у людей похилого віку з додатковими факторами ризику, зокрема, надмірною вагою.

Представлений нами випадок свідчив про те, що COVID-19 також може мати тяжкий перебіг у молодих осіб із супутньою хронічною патологією. Ожиріння погіршує перебіг вірусних інфекцій дихальних шляхів, однак ще не доведено взаємозв'язку між ожирінням та несприятливим перебігом зараження SARS-CoV-2 [7; 8].

Відсутність запальних змін на рентгенографії легень та слабо виражена клінічна симптоматика на початку захворювання не виключають тяжкого перебігу COVID-19. Це може бути пов'язано з низькою чутливістю рентгенографії при виявленні ранніх інтерстиціальних запальних змін, порівнюючи з комп'ютерною томографією [9; 10; 11]. Швидке прогресування пневмонії також може спостерігатися у молодих людей без супровідних захворювань.

ВИСНОВОК

Ожиріння (IMT > 40) обумовлює тяжкий перебіг COVID-19 у порівнянні з пацієнтами, у яких маса тіла була в нормі. Також надмірна маса тіла значно підвищує ризик ускладнень у хворих на COVID-19, викликану Sars-Cov2, та частіше призводить до летального наслідку.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Lu R., Zhao X., Li J. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020. 395(10224): 565–574. DOI: 10.1016/s0140- 6736(20)30251-8
2. Huang C., Wang Y., Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020. 395(10223): 497–506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

3. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020. 579(7798): 270–273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7
4. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., Hu Y., Tao Z.W., Tian J.H., Pei Y.Y., Yuan M.L., Zhang Y.L., Dai F.H., Liu Y., Wang Q.M., Zheng J.J., Xu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020. 579(7798): 265–269. DOI: 10.1038/s41586-020-2008-3
5. Vankadari N., Wilce J.A. Emerging WuHan (COVID-19) Coronavirus: Glycan Shield and Structure Prediction of Spike Glycoprotein and Its Interaction With Human CD26. *Emerg. Microbes Infect.* 2020. 9(1): 601–604. DOI: 10.1080/22221751.2020.1739565
6. van Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., Holbrook M.G., Gamble A., Williamson B.N., Tamin A., Harcourt J.L., Thornburg N.J., Gerber S.I., Lloyd-Smith J.O., de Wit E., Munster V.J. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 2020. 382(16): 1564–1567. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2004973>
7. Shoenfeld Y. Corona (COVID-19) time musings: Our involvement in COVID-19 pathogenesis, diagnosis, treatment and vaccine planning. *Autoimmun. Rev.* 2020. 19(6): 102538. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102538
8. Xu L., Liu J., Lu M., Yang D., Zheng X. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver International*. 2020. 40(5): 998–1004. DOI: 10.1111/liv.14435
9. Yuan M., Wu N.C., Zhu X. et al. A highly conserved cryptic epitope in the receptor binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Science*. 2020. 368(6491): 630–633. DOI: 10.1126/science.abb7269
10. Wang M., Cao R., Zhang L., Yang X., Liu J., Xu M., Shi Z., Hu Z., Zhong W., Xiao G. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* 2020. 30(3): 269–271. DOI: 10.1038/s41422-020-0282-0
11. Arts R.J.W., Moorlag S.J.C.F.M., Novakovic B., Li Y., Wang S.Y., Oosting M., Kumar V., Xavier R.J., Wijmenga C., Joosten L.A.B., Reusken C.B.E.M., Benn C.S., Aaby P., Koopmans M.P., Stunnenberg H.G., van Crevel R., Netea M.G. BCG Vaccination Protects against Experimental Viral Infection in Humans through the Induction of Cytokines Associated with Trained Immunity. *Cell Host Microbe*. 2018. 23(1): 89–100.e5. DOI: 10.1016/j.chom.2017.12.010

Article history:

Received: 10.07.2023

Revision requested: 18.07.2023

Revision received: 14.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

INFLUENCE OF OBESITY ON DIFFICULTY OF RUNNING CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19) (clinical case)

Moskaliuk V.D., Boiko Yu.I., Kolotylo T.R., Chernetska N.V.

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

taniakolotylo15@gmail.com

Aim: To conduct a retrospective analysis of the influence of obesity on the severity of the course of COVID-19 based on the analysis of the chart of an inpatient who was treated in the infectious department of the Chernivtsi Regional Clinical Hospital.

Materials and methods. «Medical card of an inpatient» of a patient who was undergoing inpatient treatment in the infectious department of the Chernivtsi Regional Clinical Hospital.

Results. A 42-year-old obese patient (BMI 40.0 kg/m²) was admitted to the inpatient ward of the infectious disease department of the Chernivtsi Regional Clinical Hospital on the 5th day of her illness. In hospital conditions, oxygen therapy was immediately started (flow 3 l/min), antibiotic therapy (cefepime - 1 g 3 r/day), hormone therapy (dexamethasone - 8 mg 1 r/day) was prescribed. On the 26th day of intensive treatment, the patient's condition significantly worsened. The state of consciousness was disturbed to the level of sopor, and then came a coma. Hemodynamic instability was noted, which required medical support (dopamine). The patient underwent endotracheal intubation and mechanical ventilation. Despite all the measures applied, cardiac arrest occurred. The resuscitation measures that were carried out did not have the desired effect, and the death of the patient was confirmed.

Conclusion. In patients with obesity (BMI > 40), the course of COVID-19 is much more severe, compared to patients whose body weight is within acceptable norms. Also, excess body weight significantly increases the risk of complications in patients with COVID-19 caused by Sars-Cov2, and more often leads to a fatal outcome.

Key words. Corona virus disease (COVID-19), obesity, severe course.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕЧІНКИ І СТАН МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОЛІЇ КАНАБІДІОЛУ

Шевчук М.М. <https://orcid.org/0000-0001-7852-5980>

Волос Л.І. <https://orcid.org/0000-0002-1733-589X>

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

Liliya.volos@gmail.com

Актуальність. Канабідіол (КБД, CBD) є природним не психоактивним фітоканабіноїдом, міститься в коноплях звичайних. Спостерігається значний ріст використання КБД в останні роки з потенційними терапевтичними ефектами, проте більшість з яких була задокументована під час клінічних випробувань, а деяких із сумнівними результатами. Особливе занепокоєння викликає можливий ризик гепатотоксичності, спричиненої КБД, тому необхідні додаткові експериментальні дослідження для вивчення хронічного впливу низьких доз КБД, особливостей патогістологічних змін печінки, з акцентом на характер та вираженість можливих пошкоджень судин печінки, особливостей гемодинаміки, зокрема на рівні мікроциркуляторного русла.

Ціль: дослідити гістологічні особливості змін печінки і стан мікроциркуляторного русла після 4 тижнів експериментального застосування олії канабідіолу.

Матеріали та методи. Дослідження проведені на білих щурах-самцях, масою 180-230 г, віком 5-7 місяців на початок експерименту. Тварини знаходились у стандартних умовах віварію, основна група складала 18 особин, яким упродовж 4 тижнів щоденно до основного корму додавали 5 крапель (3 мг) 10% олії канабідіолу, 6 тварин – інтактна група. Всі експерименти проводились згідно міжнародних правил гуманного ставлення до тварин. Забір біологічного матеріалу проводився після евтаназії з використанням диетил ефіру. Проводили гістологічне та імуногістохімічне дослідження печінки та судин з метою визначення впливу 10% олії канабідіолу.

Результати. На підставі проведеного гістологічного та імуногістохімічного дослідження встановлено, що застосування впродовж 4 тижнів в якості харчової добавки 10% олії КБД не викликало гострих чи хронічних ушкоджень печінки. Порушень часточково-балкової структури не виявлено, гістологічна структура та морфометричні показники компонентів судинного русла, зокрема артеріальних судин, порталних, венозних і лімфатичних судин, синусоїдів, а також жовчевих проток і клітин сполучнотканинної строми печінки не відрізнялась від контрольної групи.

Висновки. Враховуючи відсутність негативного впливу впродовж 4 тижнів 10% олії КБД на паренхіматозний та стромальний компоненти печінки, існує велика потреба в додаткових дослідженнях інших часових проміжків, щоб визначити можливий несприятливий вплив на печінку, оцінити фактори ризику та результати для можливого визначення оптимального застосування лікарських засобів для людини.

Ключові слова: Cannabis sativa, канабідіол, печінка, судини, патогістологія, імуногістохімія.

Актуальність. Cannabis sativa (C. sativa, канабіс, коноплі звичайні, марихуана) відноситься до сімейства коноплевих (Cannabaceae), рослина дуже багата на фітохімічні речовини, містить понад 560 відомих сполук, і в літературі описано понад 120 канабіноїдів, які мають подібну хімічну структуру [1]. Найвідомішими з них є психотропний Δ9-тетрагідроканабінол (Δ9-ТГК, Δ9-ТНС) та не психоактивний канабідіол (КБД, CBD). Частка канабідіолу в рос-

линному екстракті є великою і становить до 40 % [2].

Проведені дослідження демонструють значний ріст використання КБД в останні роки [3]. Сприяє такій популярності поширена думка, що КБД є набагато безпечнішим порівняно з його аналогом Δ9-ТГК [3-5]. Незважаючи на те, що результати підтверджують більш сприятливий профіль безпеки для КБД порівняно з ТГК, залишається необхідність досліджува-

ти потенційну шкоду КБД [3, 6, 7]. За даними авторів, значне підвищення рівня печінкових ферментів є поширеною побічною реакцією на ліки і пов'язане із застосуванням КБД у помірних і високих дозах, особливо при лікуванні рідкісних і важких типів епілепсії у дітей, різних видів судом, спастичності, пов'язаної з розсіяним склерозом, при гіперактивності, агресії та аутизму [8, 9, 10]. Таким чином, КБД створює ризик для пошкодження печінки. На нашу думку, необхідні додаткові експериментальні дослідження для вивчення токсичності хронічного впливу низьких доз КБД, особливостей патогістологічних змін печінки, з акцентом на характер та вираженість можливих пошкоджень судин печінки, особливостей гемодинаміки, зокрема на рівні мікроциркуляторного русла. Такі дослідження нададуть важливу інформацію щодо безпеки чи потенційної шкоди для прийняття регуляторних рішень.

Ціль: дослідити гістологічні особливості змін печінки і стан мікроциркуляторного русла після 4 тижнів експериментального застосування олії канабідіолу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для визначення впливу олії канабідіолу на печінку і стан мікрогемодинаміки нами проведені експериментальні дослідження із використанням 10% олії КБД. В Україні КБД є легальною речовиною, оскільки, як речовина, він виключений з переліку наркотичних та психотропних речовин згідно Постанови КМУ від 06.05.2000 № 770 та Постанови КМУ від 07 квітня 2021 року № 324 [11]. Експерименти проведені з дотриманням морально-етичних норм у відповідності до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорсткого поводження».

Експериментальні дослідження виконані на 24 статевозрілих білих щурах-самцях, масою 180-230 г, віком 5-7 місяців на початок експерименту. Всі тварини знаходились в умовах

віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Щури містилися у приміщенні з температурним режимом $20 \pm 1^\circ\text{C}$ і припливною вентиляцією, в окремих спеціальних клітках, при звичайному світловому режимі, мали стандартний раціон, призначений для лабораторних тварин, і вільний доступ до корму та води – *ad libitum*. Протягом експерименту велися щоденні спостереження за зовнішнім виглядом, поведінкою, поїданням корму та загальним станом тварин. Основна група складала 18 щурів, яким впродовж 4 тижнів 1 раз на добу в однаковий проміжок часу до основного корму додавали 5 крапель (3 мг) 10% олії канабідіолу. Контрольна група складала 6 статевозрілих білих щурів-самців, які були забезпечені водою і кормом без будь-якого обмеження. Забір біологічного матеріалу проводився після евтаназії з використанням диетил ефіру. Зразки печінки фіксували в 10% забуференому розчині формаліну. Далі згідно протоколу проводили зневоднення у спиртах зростаючої концентрації, заливали в парафін за стандартною методикою, виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 5 ± 1 мкм, які потім наносили на предметні спеціальні адгезивні скельця, проводили депарафінізацію і забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою. Імуногістохімічні дослідження проводили на гістологічних зрізах із парафінових блоків, призначених для стандартного морфологічного дослідження. У роботі використовувалися моноклональні антитіла для макрофагів CD68 (Клон KP1, DAKO), ендотелію судин CD31 (Клон JC70A, Thermo Fisher scientific). Дослідження проводили відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюми. Візуалізацію ІГХ реакції виконували за допомогою системи детекції DAKO EnVision+System з хромогеном діамінобензидином. Мікрофотографування здійснювали за допомогою світлооптичного мікроскопу Leica DM 2500 (Leica Microsystems GmbH, Німеччина) з цифровою камерою Leica DFC450 C (Німеччина) та програмним забезпеченням Leica Application Suit Version 3.8. Нами проведено морфометричне дослідження центральних вен, судин портального тракту і синусоїдів.

Для цього з гістологічних препаратів зроблено серію мікрофотографій при різному збільшенні мікроскопа. Мікрофотографії при збільшенні $\times 400$ використовували для проведення замірів внутрішнього діаметра судин і товщини стінки, а при збільшенні $\times 1000$ проводили заміри діаметра синусоїдів. Заміри розмірів просвіту центральних вен (поздовжній, поперечний, діагональний), товщину стінки, діаметр

синусоїдів у різних полях зору проводили за допомогою програмного забезпечення Aperio ImageScope v12.3.3 (Leica biosystems, Wetzlar, Німеччина). Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням програми «Microsoft Excel». Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стьюдента ($p < 0,05$).

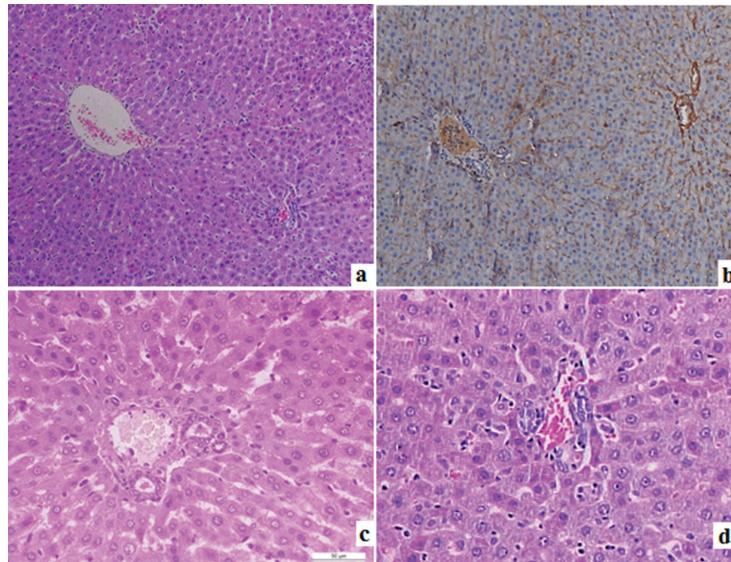


Рис.1. Будова печінки після 4-х тижнів застосування олії канабідіолу в експерименті. Структура печінкових часточок не порушена (а, b); порталні тракти: помірне набухання і повнокров'я венул в триадах, випинання ендотелію у просвіт (с), перипортальні гепатоцити менші за розмірами з гіперхромними ядрами (d). Забарвлення гематоксиліном та еозином (а, с, d); ІГХ типування ендотелію за допомогою маркера CD31 (b). Збільшення а, b $\times 100$; c, d $\times 400$

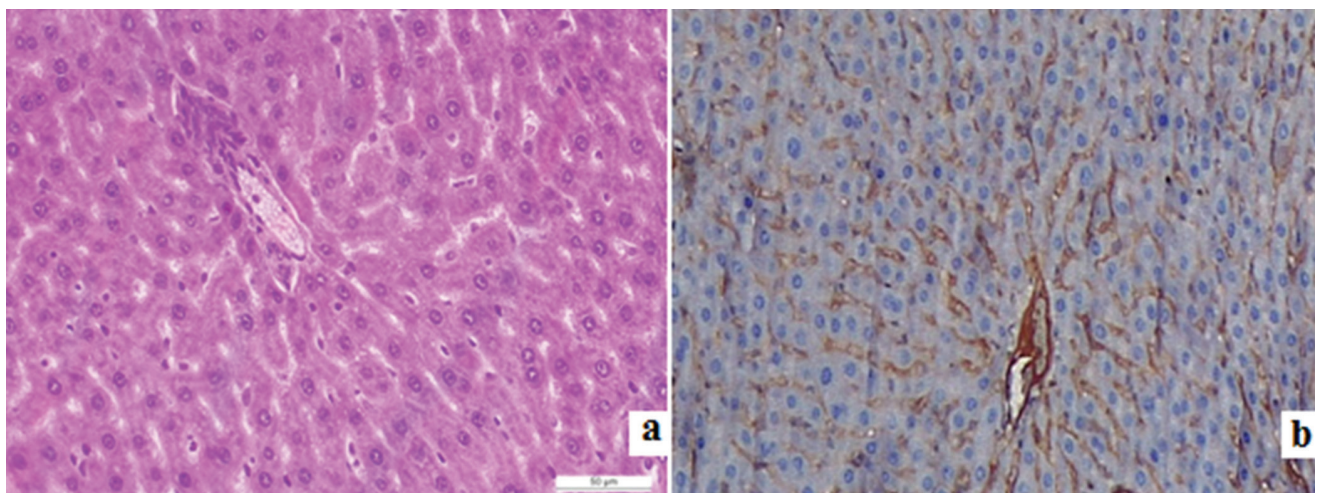


Рис.2. Центральні вени часточок печінки овальної форми, стінка тонка, вистелена шаром ендотеліальних клітин. Синусоїдні капіляри між рядами печінкових балок. Забарвлення гематоксиліном та еозином (а); ІГХ типування ендотелію за допомогою маркера CD31 (b). Збільшення а, b 400

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами проведено гістологічне дослідження мікрогемоциркуляторного русла і стромально-паренхіматозних структур печінки після 4-х тижнів застосування олії канабідіолу. Паренхіма печінки експериментальних щурів зберігала свою фізіологічну будову. Структура печінкових часточок не порушена. На гістологічних препаратах класична часточка мала вигляд правильного шестикутника, у центрі якого розташована центральна вена, а у вершинах – портальні тракти. Структурні межі часточок в експериментальних щурів були не чіткі, так як сполучна тканина печінки слабо виражена і не бере участі в розмежуванні часточок. За межі часточок бралися умовні лінії між портальними трактами.

У межах часточок відносно правильними рядами розміщувалися печінкові клітини, формуючи радіальні печінкові пластинки. Морфологічно відзначалося збереження структури і форми гепатоцитів. Гепатоцити були звичайної будови, мали багатокутну форму, добре помітні межі. Цитоплазма амфотільна чи еозинотільна і гранулярна. В окремих гепатоцитах виявлялася мікровезикулярна дистрофія. Ядра гепатоцитів розташовані центрально, містили одне або два добре помітні ядереця, які могли дещо відрізнятися за величиною і формою, але частіше були округлі. При детальному гістологічному вивченні гепатоцитів в деяких з них ядра були зміщені на периферію, також зустрічалися гепатоцити з диспергованим або конденсованим хроматином у ядрі. Переважна більшість гепатоцитів одноядерні, поряд із ними зустрічалися поодинокі двоядерні гепатоцити. Звертали на себе увагу перипортальні гепатоцити, які були дещо менші за розмірами, ядра їх гіперхромніші, а цитоплазма базофільна. Загалом часточкова і балкова структура печінки була збережена тварин експериментальної групи і не відрізнялася від контролю (рис. 1 a-d).

Враховуючи той факт, що мікроциркуляторне русло печінки має тісний структурно-функціональний зв'язок із оточуючою паренхімою, нами було проведено гістологічне дослідження

компонентів судинного русла, зокрема артеріальних судин, портальних, венозних і лімфатичних судин, синусоїдів, а також жовчевих проток і клітин сполучнотканинної строми печінки. Мікроциркуляцію крові в печінковій часточці забезпечують міжчасточкові вени і артерії, дрібні гілочки міжчасточкових вен, які оточують часточки, так звані термінальні портальні венули, синусоїдні капіляри, центральні і підчасточкові вени.

Центральні вени часточок були округлої або овальної форми. Стінка центральної вени тонка, вистелена одним шаром ендотеліальних клітин. Сплющений ендотелій характеризувався наявністю також плескатих гіперхромних ядер. Цитоплазма ендотеліальних клітин рівномірно та інтенсивно забарвлювалася маркером CD31 і мала чіткі, рівні контури. Використання імерсії і збільшення зображення до 1000 разів показало переривчасту базальну мембрану і наявність тонкого простору, який був продовженням простору Діссе численних синусоїдів, що впадали в центральну вену. Результати проведених нами морфометричних досліджень діаметра центральної вени продемонстрували показники від 87,79 мкм до 90,89 мкм. Центральні вени декількох сусідніх часточок з'єднувалися з підчасточковими венами, які проходили в сполучнотканинних прошарках окремо від печінкових тріад, не мали з'єднання з синусоїдами і впадали в нижню порожнисту вену. Морфологічно центральні і підчасточкові вени були без особливостей (рис. 2a, b).

Портальні тракти були утворені печінковою артерією, портальною веною, жовчевими протоками і лімфатичними судинами, і проходили в сполучнотканинних прошарках у вершинах часточок. В кожному портальному тракті розташовувалися по одній-дві і навіть у деяких трактах більше печінкових артерій, які кровопостачали жовчеві протоки. Печінкові артерії портальних трактів овальної або округлої форми, у просвіті деяких наявні еритроцитарні агрегати. Стінка печінкової артерії незначно потовщена, її внутрішня оболонка вистелена збереженим ендотелієм. Ядра ендотеліальних клітин плескати, видовженої фор-

ми. Зустрічається також незначне набухання ендотелію. Нами проведено заміри внутрішнього діаметра печінкової артерії і товщини її стінки. Визначали поперечний, поздовжній і діагональний розміри просвіту, а також заміри товщини стінки по периметру у різних місцях. Число і діаметр артерій в тріаді може широко варіювати. Поздовжній замір діаметра печінкової артерії був найбільшим і склав 61,88 мкм, діагональний – 46,20 мкм, поперечний – 37,63 мкм. Товщина стінки по периметру була нерівномірною і складала в різних місцях від 3,87 мкм до 4,78 мкм. В окремих випадках просвіт печінкової артерії у портальних трактах звужений за рахунок набухання ендотелію і лейкостазів. Жовчеві протоки звичайної будови (рис. 1 а-d).

Гілки портальної вени мали діаметр від 350 мкм до 400 мкм і утворювали великі міжчасточкові вени, а гілки міжчасточкових вен поділялися на претермінальні вени, що розташовувалися у портальних трактах, які мали трикутну форму, і термінальні вени, які розташовувалися у портальних трактах, що мали округлу форму і були меншими. Діаметр претермінальних портальних вен коливався від 105 мкм до 150 мкм, а вже їх термінальні гілки мали діаметри від 35 до 50 мкм. (рис. 1 с, d).

Синусоїдні капіляри при забарвленні гематоксиліном та еозином виглядали як світлі щілиноподібні простори між рядами печінкових балок, мали радіальний напрямок, сходилися до центра часточок і впадали в центральну вену (рис. 2а). Клітинна вистилка стінки синусоїдних капілярів сформована ендотеліоцитами і клітинами Купфера (резидентними печінковими макрофагами). Ендотеліоцити вистилали основну частину поверхні синусоїдних капілярів. ІГХ типування за допомогою маркера CD31 добре візуалізувало стінку синусоїдів (рис. 1b, 2b) і показало, що ендотеліоцити синусоїдів на великому збільшенні мали витягнуту форму і овальне гіперхромне ядро, що виступало у просвіт капіляра. Середній діаметр перипортальних синусоїдів був від 4,6 мкм до 6 мкм, тоді як централобулярні синусоїди мали середній діаметр 7,5 мкм. Перипортальні синусоїди більше були представлені звивистими каналами, тоді як централобуляр-

ні синусоїди були прямими. В деяких полях зору окремі синусоїди були незначно розширені з діаметром від 9,1 мкм до 11 мкм, наявний еритростаз (рис. 3 а-с).

За даними Xie G, Wang C. зі співавт. виділення перипортальних, середньочасточкових і централобулярних синусоїдів печінки дозволяє досліджувати, наприклад, зональну токсичність лікарських засобів. Багато процесів є залежними від синусоїдальних ендотеліальних клітин печінки, включаючи медикаментозне ураження печінки, ішемічно-реперфузійне ураження та інші [12].

Клітини Купфера, або зірчасті ретикулоендотеліоцити, були локалізовані на ендотеліоцитах і між ними. Вони більші за ендотеліальні клітини, неправильної зірчастої форми, з великим овальним ядром та маленькими ядерцями. ІГХ типування клітин Купфера за допомогою маркера CD68 показало, що популяція клітин Купфера неоднорідна. Ми виділяли два типи клітин: великі, які локалізувалися, головним чином, в перипортальній зоні, і малі, які розташовувалися, в основному, в центральній зоні часточки (рис. 4 а, b). Купферівські клітини входять до системи моноклеарних фагоцитів, функція яких є важливою ланкою у підтримці сталості внутрішнього середовища організму. Проникаючи своїми відростками в простір Діссе, а також між ендотеліальними клітинами, при цьому не утворюючи з ними специфічних сполук, зірчасті ретикулоендотеліоцити розміщуються в ендотеліальній вистилці синусоїда, як би плombsуючи місце розриву між сусідніми ендотеліальними клітинами, забезпечуючи цілісність стінки синусоїдів [13].

Крім того, до складу строми печінки входять сполучнотканинні клітини: фібробласти, які продукують колаген, клітини Іто, тучні клітини і Pit-клітини, які розміщуються переважно в синусоїдах. Сполучна тканина містить також більш тонкі розгалужені колагенові волокна, що утворюють опорну сіткоподібну структуру між гепатоцитами [14].

У літературі представлені результати експериментальних досліджень, в яких автори висловлюють занепокоєння через розвиток гепатотоксичності, спричиненої канабідіолом

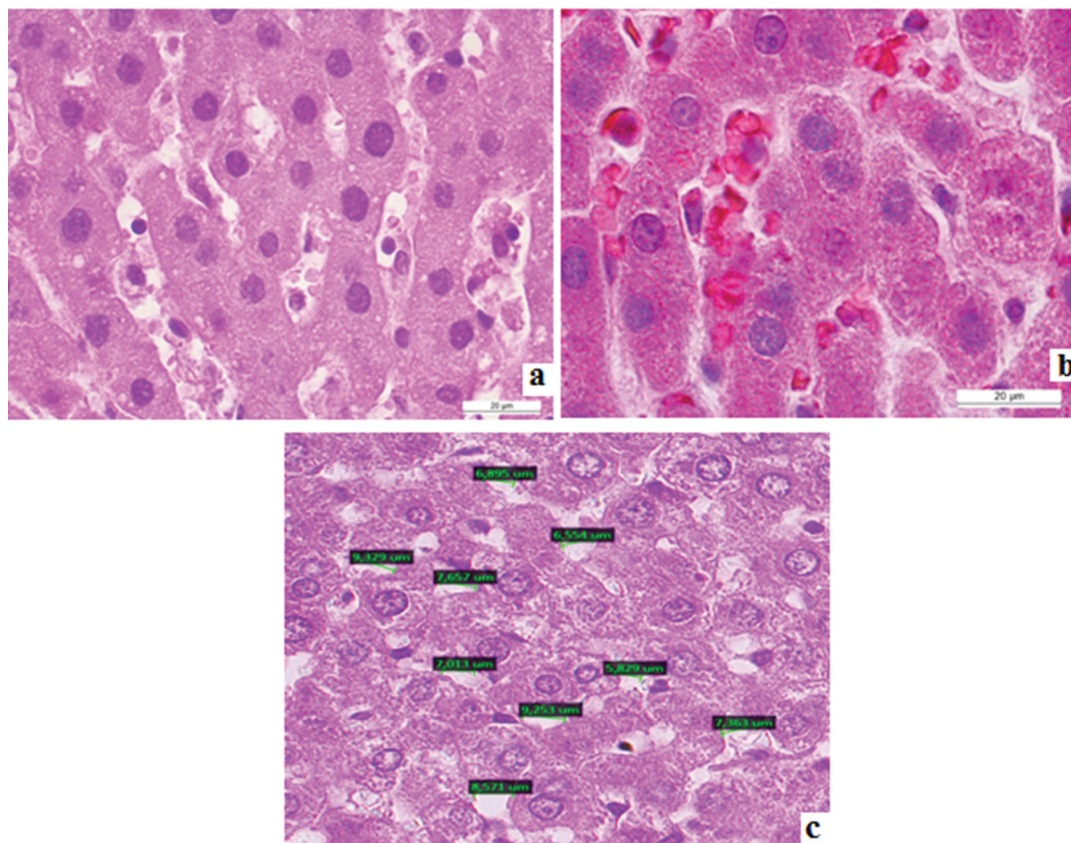


Рис. 3. Синусоїдні капіляри печінки. В окремих синусоїдах – еритростаз, ендотеліоцити синусоїдів мають витягнуту форму і овальне гіперхромне ядро, що виступає у просвіт капіляра; діаметр перипортальних синусоїдів від 4,6 мкм до 6 мкм, окремі синусоїди з діаметром від 9,1 мкм до 11 мкм. Забарвлення гематоксилином та еозином. x1000, імерсія

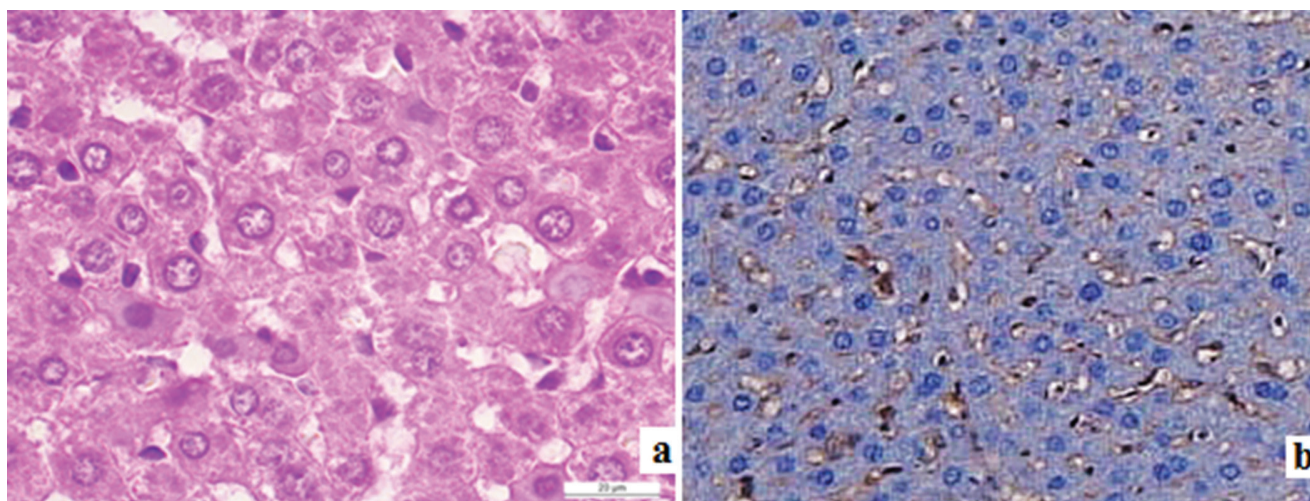


Рис.4. Клітини Купфера між ендотеліальними клітинами синусоїдів. Забарвлення гематоксилином та еозином (а). x1000, імерсія; ІГХ типування клітин Купфера за допомогою маркера CD68 (б). x1000, імерсія

[15]. В останніх клінічних випробуваннях підвищені печінкові ферменти спостерігалися у 5–20% пацієнтів, які отримували канабідіол, і кілька пацієнтів були виключені через загрозу фульмінантної печінкової недостатності [16, 17]. Ewing LE зі співавтор. досліджували гепатотоксичність канабідіолу у 8-тижневих самців мишей лінії B6C3F1. Тваринам вводили різні дози КБД, включаючи високі дози 246, 738 або 2460 мг/кг, викликаючи гостру токсичність впродовж 24 годин, або дози 61,5, 184,5 і 615 мг/кг протягом 10 днів, викликаючи підгостру токсичність. Ці дози являли собою алометричні еквівалентні дози для мишей максимальної рекомендованої підтримуючої дози КБД для людини у препараті EPIDIOLEX® (20 мг/кг). У дослідженні з гострою токсичністю спостерігалось значне збільшення співвідношення маси печінки до маси тіла, підвищення АЛТ, АСТ і загального білірубину в плазмі при дозі 2460 мг/кг. У дослідженні з підгострою токсичністю у 75% мишей, які отримували через зонд 615 мг/кг, розвинувся смертельний стан між третьою і четвертою добою. Як і під час гострої фази, при дозі 615 мг/кг КБД, фіксували підвищення співвідношення маси печінки до маси тіла, АЛТ, АСТ і загальний білірубін. Крім того, дослідження експресії генів гепатотоксичності показали, що КБД диференційовано регулює понад 50 генів, багато з яких були пов'язані з реакціями на окислювальний стрес, шляхами метаболізму ліпідів і ферментами, що метаболізують ліки. КБД демонстрував явні ознаки гепатотоксичності, можливо, холестатичної природи. Залучення численних шляхів, пов'язаних з метаболізмом ліпідів і ксенобіотиків, викликає серйозні занепокоєння щодо потенційної взаємодії лікарських засобів, а також щодо безпеки КБД [18].

ВИСНОВКИ

На підставі проведеного гістологічного та імуногістохімічного дослідження встановлено, що застосування впродовж 4 тижнів в якості харчової добавки 10% олії КБД не викликало гострих чи хронічних ушкоджень печінки. Порушень часточково-балкової структури не

виявлено, гістологічна структура компонентів судинного русла, зокрема артеріальних судин, порталних, венозних і лімфатичних судин, синусоїдів, а також жовчевих проток і клітин сполучнотканинної строми печінки не відрізнялась від контрольної групи ($p < 0,05$).

Крім того, існує велика потреба в додаткових дослідженнях інших часових проміжків, щоб визначити можливий несприятливий вплив на печінку, оцінити фактори ризику та результати для можливого визначення оптимального застосування лікарських засобів для людини.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

- Schilling S, Melzer R, McCabe PF. Cannabis sativa. *Curr Biol*. 2020 Jan 6;30(1): R8-R9. DOI: 10.1016/j.cub.2019.10.039.
- Britch SC, Babalonis S, Walsh SL. Cannabidiol: pharmacology and therapeutic targets. *Psychopharmacology (Berl)*. 2021 Jan;238(1):9-28. DOI: 10.1007/s00213-020-05712-8.
- Williamson EM, Liu X, Izzo AA. Trends in use, pharmacology, and clinical applications of emerging herbal nutraceuticals. *Br J Pharmacol*. 2020;177(6):1227–40. DOI: 10.1111/bph.14943
- Bergamaschi MM, Queiroz RHC, Zuardi AW, Crippa JAS. Safety and side effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent. *Curr Drug Saf*. 2011; 6(4): 237–49. DOI: 10.2174/157488611798280924
- Bhamra SK, Desai A, Imani-Berendjestanki P, Horgan M. The emerging role of cannabidiol (CBD) products; a survey exploring the public's use and perceptions of CBD. *Phytother Res*. 2021; 35(10): 5734–40. DOI: 10.1002/ptr.7232
- Chesney E, Oliver D, Green A, Sovi S, Wilson J, Englund A, et al. Adverse effects of cannabidiol: a systematic review and

- meta-analysis of randomized clinical trials. *Neuropsychopharmacol.* 2020; 45(11): 1799–806. DOI: 10.1038/s41386-020-0667-2
7. Manthey J. Cannabis use in Europe: current trends and public health concerns. *Int J Drug Policy.* 2019; 68: 93–6. DOI: 10.1016/j.drugpo.2019.03.006
8. Arzimanoglou A, Brandl U, Cross JH, Gil-Nagel A, Lagae L, Landmark CJ. The cannabinoids international expert's panel; collaborators. *Epilepsy and cannabidiol: a guide to treatment.* *Epileptic. Disord.* 2020; 22: 1–14. DOI: 10.1684/epd.2020.1141.
9. Comi G, Solari A, Leocani L, Centonze D, Otero-Romero S. Italian consensus group on treatment of spasticity in multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 2020; 27: 445–453. DOI: 10.1111/ene.14110.
10. Gamble, L.J., Boesch, J.M., Frye, C.W., Schwark, W.S., Mann, S., Wolfe, L., Brown, H., Berthelsen, E.S., Wakshlag, J.J. Pharmacokinetics, Safety, and Clinical Efficacy of Cannabidiol Treatment in Osteoarthritic Dogs. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5:165. DOI: 10.3389/fvets.2018.00165.
11. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/324-2021-п#Text>
12. Xie G, Wang L, Wang X, Wang L, DeLeve LD. Isolation of periportal, midlobular, and centrilobular rat liver sinusoidal endothelial cells enables study of zonated drug toxicity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2010 Nov;299(5): G1204-10. DOI:10.1152/ajpgi.00302.2010.
13. Wisse E. An ultrastructural characterization of the endothelial cell in the rat liver sinusoid under normal and various experimental conditions, as a contribution to the distinction between endothelial and Kupffer cells. *J. Ultrastruct. Res.* 1972; 38: 528.
14. Wisse E, De Zanger RB, Charels K, Van Der Smissen P, & McCuskey RS. The liver sieve: Considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall, and the space of Disse. *Hepatology.* 1985; 5: 683–92.
15. Marx TK, Reddeman R, Clewell AE, Endres JR, Beres E, Vertesi A, Glavits R, Hirka G, Szakonyine IP. An Assessment of the Genotoxicity and Subchronic Toxicity of a Supercritical Fluid Extract of the Aerial Parts of Hemp. *J. Toxicol.* 2018; 8143582. DOI: 10.1155/2018/8143582.
16. Devinsky O, Cross, J.H., Wright, S. Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome. *N. Eng. J. Med.* 2017; 377:699–700. DOI: 10.1056/NEJMoa1611618.
17. Thiele EA, Marsh ED, French JA, Mazurkiewicz-Beldzinska M, Benbadis SR, Joshi C, Lyons PD, Taylor A, Roberts C, Sommerville K. Cannabidiol in patients with seizures associated with Lennox-Gastaut syndrome (GWPCARE4): A randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2018; 391:1085–96. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30136-3.
18. Ewing LE, Skinner CM, Quick CM, Kennon-McGill S, McGill MR, Walker LA, ElSohly MA, Gurley BJ, Koturbash I. Hepatotoxicity of a Cannabidiol-Rich Cannabis Extract in the Mouse Model. *Molecules.* 2019 Apr 30;24(9):1694. DOI: 10.3390/molecules24091694.

Article history:

Received: 18.06.2023

Revision requested: 26.06.2023

Revision received: 21.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE LIVER AND CONDITION OF THE MICROCIRCULATORY BED
AFTER EXPERIMENTAL APPLICATION OF CANNABIDIOL OIL

Shevchuk M.M., Volos L.I.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Liliya.volos@gmail.com

Background. Cannabidiol (CBD) is a natural non-psychoactive phytocannabinoid found in ordinary hemp. There has been a significant increase in the use of CBD in recent years with potential therapeutic effects, however, most of which have been documented in clinical trials and some with questionable results. Of particular concern is the possible risk of hepatotoxicity caused by CBD, therefore, additional experimental studies are needed to research the chronic effects of low doses of CBD, features of pathohistological changes in the liver, with an emphasis on the levels of possible damage to liver vessels, features of hemodynamics, at the level of the microcirculatory bed.

Aim: to investigate the histological features of liver changes and the condition of the microcirculatory bed after 4 weeks of experimental application cannabidiol oil.

Materials and methods. The research was conducted on white male rats, weighing 180-230 g, aged 5-7 months at the beginning of the experiment. The rats were kept in standard vivarium conditions, the main group consisted of 18 rats, which were given 5 drops (3 mg) of 10% cannabidiol oil daily for 4 weeks in the main feed, 6 rats – the intact group. All experiments were conducted in accordance with international rules for humane treatment of animals. Collection of biological material was carried out after euthanasia using diethyl ether. A histological and immunohistochemical study of the liver and blood vessels was performed to determine the effect of 10% cannabidiol oil.

Results. Based on the conducted histological and immunohistochemical research, it was established that the use of 10% CBD oil as a food supplement for 4 weeks did not cause acute or chronic liver damage. No violations of the lobular structure were detected, the histological structure and morphometric parameters of the components of the vascular bed, in particular arterial vessels, portal, venous and lymphatic vessels, sinusoids, bile ducts and cells of the connective tissue stroma of the liver, did not differ from the control group.

Conclusion. Given the lack of adverse effects after four weeks use of 10% CBD oil on the parenchymal and stromal components of the liver, more research is needed of other time points to determine possible adverse effects on the liver, assess risk factors, and outcomes to potentially determine optimal human medical drugs with CBD oil use.

Key words: Cannabis sativa, cannabidiol, liver, blood vessels, pathohistology, immunohistochemistry.

ФАРМАЦЕВТИЧНА ОПІКА ЯК ВАЖЛИВА СКЛАДОВА РАЦІОНАЛЬНОГО ВИКОРИСТАННЯ СЕДАТИВНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Темірова О.А. <https://orcid.org/0000-0002-9752-6898>

Городецька Н.Я. <https://orcid.org/0009-0002-7592-0269>

Хайтович М.В. <https://orcid.org/0000-0001-6412-3243>

Потаскалова В.С. <https://orcid.org/0000-0002-6255-7513>

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

olenatemirova@gmail.com

Актуальність. Стрес є однією з найбільш актуальних проблем сучасного суспільства, що визначає зростання споживання седативних лікарських засобів.

Ціль: проаналізувати роль фармацевтичної опіки у забезпеченні раціонального використання седативних засобів.

Матеріали та методи. Анкетували 124 аптечних працівників та 101 відвідувача аптек. У роботі було використано методи: стандартизації, соціологічного опитування, графічний та статистичний.

Результати. Встановлено, що майже 80% респондентів відзначали розлади сну та тривожність, тоді як лише 27% зверталися за допомогою до фахівця. Понад 90% фармацевтичних працівників підтвердили, що з початком повномасштабного військового вторгнення кількість звернень відвідувачів щодо відпуску седативних лікарських засобів, переважно без призначення лікаря, суттєво зросла. Так, майже 40% опитуваних вдаються до самопризначення та самолікування з використанням заспокійливих засобів. Виявлено, що частіше аптечні працівники (90%) рекомендують, а відвідувачі (56%) обирають рослинні седативні засоби. Окрім того, 70% фармацевтів відзначали звернення відвідувачів з проханням відпустити препарат гідазепам без призначення лікаря. При відпуску седативних засобів більш ніж половина опитаних фармацевтів не використовують протокол «Симптоматичне лікування стресу». Відвідувачі аптек, які переважно не отримували рекомендації щодо правил застосування седативних засобів, відзначали появу небажаних реакцій після їх застосування, а саме: сонливість та слабкість в день (48,8%), розлади сну (22,0%), запаморочення (34,1%), розвиток залежності (22,0%).

Висновки. Надання якісної фармацевтичної опіки є необхідною умовою ефективної та безпечної терапії седативними засобами. Разом з тим, важливим є проведення тематичного удосконалення для фармацевтів з питань психофармакології.

Ключові слова: седативні лікарські засоби, аптечні працівники, фармацевтична опіка, лікарські взаємодії.

Актуальність. На сьогодні, неврологічні розлади належать до найпоширеніших захворювань в світі. Так, частота психосоматичні порушення у розвинених країнах становить від 20% до 60% [1]. Особливо гострою є проблема в Україні, оскільки повномасштабне військове вторгнення позначитися на психологічному здоров'ї кожного громадянина [2]. У настрої більшості українців переважає тривога (38%), виснаження (18%), роздратування (12%) та апатія (12%) [3]. Високий рівень стресу характерний для усіх вікових категорій. Це

сприяло зростанню попиту на заспокійливі лікарські засоби, в тому числі бензодіазепіни, зокрема за підсумками 2022 року обсяги продажу гідазепаму збільшилися майже на 44%. Лікарський засіб знаходився на 7-й позиції в рейтингу споживання за даними роздрібних продажів [4]. Разом з тим, нераціональне застосування седативних засобів може призвести до небажаних та небезпечних для життя наслідків. Повідомляється, що безодіазепіни, в тому числі гідазепам, можуть викликати лікарську залежність. Окрім того, не є безпечним

використання даної групи лікарських засобів для пацієнтів у віці понад 65 років [5]. Тоді як за результатами окремих досліджень показано, що прийом бензодіазепінів сприяє зростанню ризику деменції [6].

Ціль: проаналізувати роль фармацевтичної опіки у забезпеченні раціонального використання седативних лікарських засобів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Було проведено анкетні опитування відвідувачів аптек та фармацевтичних працівників. Анкети було сформовано відповідно до мето-

дичних рекомендацій та представлено у вигляді Google-форми [7]. Дослідження виконано протягом грудня 2022 року – лютого 2023 року.

Структура анкети для відвідувачів була традиційною: реєстраційні дані (стать, вік) та питання щодо особливостей використання седативних засобів. Характеристика респондентів наведена в табл. 1.

Анкета для аптечних працівників включала 18 питань: реєстраційні дані та питання відпуску й рекомендацій седативних лікарських засобів. Характеристика контингенту фармацевтичних працівників представлена в табл.2.

Під час проведення опитувань дотриму-

Таблиця 1

Характеристика контингенту респондентів (n=101)

Параметр	Кількість	Питомий показник (%)
Стать		
Чоловіки	13	12,9
Жінки	88	87,1
Вікові категорії (роки)		
18-30	89	88,1
31-45	9	8,9
45-60	3	3
Наявність безсоння, тривоги, стресу		
Так	78	77,2
Ні	23	22,8

Таблиця 2

Характеристика контингенту фармацевтичних працівників (n=124)

Параметр	Кількість	Питомий показник (%)
Посада		
Завідувач	38	30,6
Фармацевт	38	30,6
Асистент фармацевта	48	38,7
Стаж роботи		
До 2 років	25	20,2
3-6 років	61	49,2
Більше 7 років	38	30,6
Так	78	77,2
Ні	23	22,8

валися принципів конфіденційності, анонімності та добровільності. Статистичний аналіз проводили за допомогою пакету IBM SPSS Statistics Base version 22.0». Було досліджено такі основні статистичні характеристики: кількість спостережень (n), кореляційний χ^2 Пірсона.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами анкетних опитувань встановлено, що майже 80% респондентів мали розлади сну, відмічали стрес та тривогу (табл. 1). Разом з тим, лише 27% опитаних зверталися за допомогою до лікаря. Окрім того, майже 40% використовували поради інтернет-ресурсів та вдавалися до самопризначення й самолікування, близько 14% зверталися до аптечних працівників, тоді як 20% – взагалі не лікувалися. Результати анкетних опитувань фармацевтичних працівників (93%) показали, що з початком повномасштабного військового вторгнення кількість звернень відвідувачів щодо відпуску седативних лікарських засобів суттєво зростає, що свідчить про збільшення споживання даної групи лікарських засобів. Більше 80% фармацевтів підтвердили, що відвідувачі частіше просять відпустити заспокійливі лікарські засоби без призначення лікаря. Отримані результати вказують на важливе значення фармацевтичної опіки для забезпечення відповідального самолікування при відпуску седативних лікарських засобів.

В подальшому було проаналізовано які групи седативних лікарських засобів які частіше використовуються. Важливо відзначити, що 73

респонденти з 101 приймали седативні засоби. З них 56% найчастіше вживали фітозасоби, 25% – похідні бензодіазепінів, 19% – комбіновані засоби барбітуратів та понад 16% віддавали перевагу агоністам рецепторів мелатоніну (табл. 3). Тоді як майже 90% фармацевтів рекомендували своїм відвідувачам седативні засоби на рослинній основі, 26% – агоністи рецепторів мелатоніну, а 23% – комбіновані засоби барбітуратів. Отримані результати вказують на високу частоту використання рослинних седативних засобів, а приймання рецептурних бензодіазепінів потребує контролю лікаря/фармацевта. Так, до 96% фармацевтів зверталися відвідувачі з проханням відпустити гідазепам. При цьому, серед них майже 70% стикалося з відсутністю рецепта на даний лікарський засіб.

За результатами опитування відвідувачів аптек та спеціалістів встановлено, що головними критеріями при виборі седативних лікарських засобів є швидкий початок дії та відсутність снодійного ефекту (рис.1.)

Надалі було проаналізовано інформаційну роботу фармацевтичних працівників при відпуску седативних засобів. Встановлено, що понад 80% фармацевтів (n=101) попереджують відвідувачів аптеки про можливий розвиток небажаних реакцій та ризики лікарських взаємодій. Тоді як 17,7% інформаційну роботу не проводять. Разом з тим, лише 24% опитаних підтвердили, що отримали рекомендації щодо правил прийому седативних засобів від фармацевтів. Менше 20% були попереджені про можливий розвиток побічних реакцій та лікарських взаємодій.

Таблиця 3

Рекомендації фармацевтів та вибір відвідувачів седативних лікарських засобів

Вибір відвідувачів (%)	Седативні засоби	Рекомендації фармацевтів (%)
56,1	Заспокійливі на рослинній основі	91,9
19,5	Комбіновані засоби барбітуратів	22,6
25,6	Похідні бензодіазепінів	1,6
15,9	Агоністи рецепторів мелатоніну	25,8

Примітка. Частка відповідей не становить 100 %, оскільки респонденти зазначали декілька відповідей.

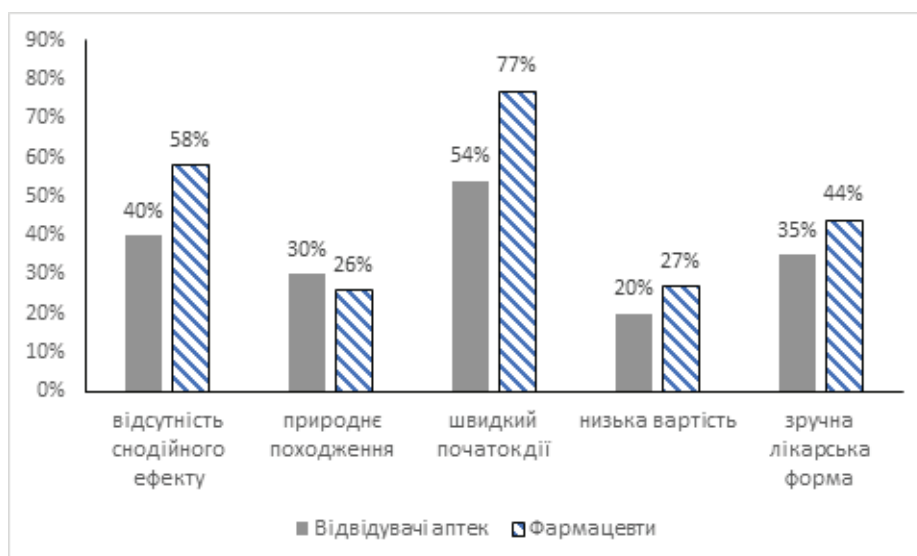


Рис.1. Критерії вибору седативних лікарських засобів

Примітка. Сума відповідей не становить 100 %, оскільки респонденти зазначали декілька варіантів відповідей.

Виявлено, що понад 40% фахівців уточнюють чи приймає відвідувач інші лікарські засоби, тоді як 53% запитують лише у випадку якщо відвідувач повідомляє, що лікується від певного захворювання. Подібна ситуація з життєво важливими групами лікарських засобів: антидіабетичними, антигіпертензивними, протисудомними. Більше половини аптечних працівників не уточнюють інформацію про вживання названих груп лікарських засобів, що збільшує ризики взаємодій. Відповідно до протоколу, аптечний працівник має уточнити у відвідувача чи має місце прийом гормонів щитоподібної залози, антигіпертензивних засобів, загальнотонізуючих засобів та препаратів кофеїну. Так, рослинні седативні засоби можуть підсилювати дію антигіпертензивних засобів центральної дії та анальгетиків [8]. Тоді як рослинний антидепресант трава звіробою є потужним індуктором ізоферментів цитохрому P-450, що метаболізують більшість лікарських засобів [9]. Іншими індукторами ферментної системи цитохрому є барбітурати, тому слід уникати комбінації з іншими засобами [10]. Уточнення інформації, про використання інших засобів, є важливим етапом надання фармацевтичної опіки.

Важливо зазначити, що 32% опитаних відвідувачів відзначали появу, а 60% аптечних працівників звернення, з приводу небажаних

реакцій після застосування седативних засобів (табл.4) Так, найпоширенішим проявом небажаних реакцій була сонливість та слабкість впродовж дня. Тоді як відсутність денної сонливості є одним з головних критеріїв при виборі седативних засобів.

Виявлено, що частота небажаних реакцій після застосування седативних лікарських засобів серед відвідувачів аптек, які отримали рекомендації від фармацевтів, становила близько 29%, тоді як серед респондентів що не отримали таких рекомендацій – 51%. Встановлено, що надання аптечними працівниками рекомендацій щодо режиму та правил прийому седативних лікарських засобів, сприяло достовірному зниженню частоти небажаних реакцій ($\chi^2 = 10,43$; $p < 0,05$).

Роль фармацевтичних працівників у забезпеченні оптимізації використання седативних засобів підтверджено результатами клінічних досліджень. Так, в дослідженні Aisha F. Badr та співавт. встановлено зменшення частоти використання декількох седативних/снодійних засобів у госпіталізованих пацієнтів після включення до команд з моніторингу використання лікарських засобів фармацевтів [11]. За результатами іншого дослідження співпраця між фармацевтами та лікарями первинної ланки сприяла зменшенню ризиків, пов'язаних із застосуванням бензодіазепінів [12]. Тоді як в

Поява небажаних реакцій після застосування седативних засобів

Прояв небажаних реакцій	Споживачі (%)	Фармацевти (%)
Порушення сну	22,0	40,7
Нічні жахи	14,6	10,2
Сонливість та слабкість в денний час	48,8	66,1
Запаморочення	34,1	28,8
Виникнення залежності	22,0	20,3

Примітка. Сума відповідей не становить 100 %, оскільки респонденти зазначали декілька варіантів відповідей.

дослідженні Eric Lui та співавт. показано, що втручання фармацевтів сприяло зменшенню прийому седативних засобів на 50% [13].

Роль фармацевтичних працівників у забезпеченні раціонального використання седативних лікарських засобів є важливою як в клінічних умовах так і в умовах аптеки. Так, окрім рекомендацій щодо застосування лікарських засобів, фармацевти проводять просвітницьку роботу для подолання стресу та оптимізації фармакотерапії. Відповідно до протоколу фармацевта «Симптоматичне лікування стресу», затвердженого наказом МОЗ України №7 від 05.01.2022 року, такі рекомендації включають: повноцінний відпочинок та забезпечення сну не менше 8 годин; перегляд режиму харчування; збільшення фізичної активності; обмеження вживання алкогольних напоїв та тютюнопаління тощо [8].

ВИСНОВКИ

Надання якісної фармацевтичної опіки є необхідною умовою ефективної та безпечної терапії седативними засобами. Так, майже 80% відвідувачів аптек мають проблеми з безсонням, стресом та тривогою. Окрім того, майже 40% вдаються до самопризначення та самолікування з використанням седативних лікарських засобів.

Виявлено, що більшість фармацевтів (88%) рекомендують своїм відвідувачам седативні засоби на рослинній основі. Разом з тим, біль-

ше половини фармацевтів не використовують протокол «Симптоматичне лікування стресу». Тоді як надання аптечними працівниками рекомендацій щодо правил застосування седативних засобів, сприяло зростанню безпечності фармакотерапії ($p < 0,05$). Це обґрунтовує важливість проведення тематичного удосконалення для фармацевтів з питань психофармакології.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Torrubia-Pérez, E., Reverté-Villarroya, S., Fernández-Sáez, J., & Martorell-Poveda, M.-A. (2022). Analysis of Psychosomatic Disorders According to Age and Sex in a Rural Area: A Population-Based Study. *Journal of Personalized Medicine*, 12(10), 1730. DOI: 10.3390/jpm12101730
2. Petukhova, I., Zaushnikova, M. & Klevets, L. (2022). Methods of reducing the anxiety level of the population in the conditions of war. *Bulletin of the National Defense University of Ukraine*, 123–129. [in Ukrainian]. DOI: 10.33099/2617-6858-2022-68-4-123-129

3. Ivashchuk M. (2023). Only 11% of Kyiv residents describe their psycho-emotional state as stable: results of a survey in "Kyiv Digital". Big city magazine.
4. Kirsanov D. (2023). A brief analysis of the retail farm market: preliminary results for 2022. *Weekly Pharmacy*, 72-73 [in Ukrainian].
5. Chapoutot, M., Peter-Derex, L., Bastuji, H., Leslie, W., Schoendorff, B., Heinzer, R., Siclari, F., Nicolas, A., Lemoine, P., Higgins, S., Bourgeois, A., Vallet, G. T., Anders, R., Ounnoughene, M., Spencer, J., Meloni, F., & Putois, B. (2021). Cognitive behavioral therapy and acceptance and commitment therapy for the discontinuation of long-term benzodiazepine use in insomnia and anxiety disorders. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(19), 10222. DOI: 10.3390/ijerph181910222
6. Aldaz, P., Garjón, J., Beitia, G., Beltrán, I., Librero, J., Ibáñez, B., Arroyo, P., & Ariz, M. J. (2020). Association between benzodiazepine use and development of dementia. *Medicina Clínica*. DOI: 10.1016/j.medcli.2020.02.006
7. [Organization of sociological surveys of patients / their representatives and medical personnel in health care institutions (methodical recommendations)]. *Family medicine*. 2016;5(67): 118-125. [in Ukrainian].
8. About approval of pharmacist protocols, *Injunction № 7 (2022)* (The Ministry of Health of Ukraine). [in Ukrainian].
9. Khaitovych, M., Sova, V. A., Kyrylchuk, K. Y., Sytnyk I., Polovynka, V., Temirova O., & Turchak, D. (2022). Problematic polypharmacy in outpatient therapy of children: potential risks of drugs interactions. *Medical Science of Ukraine (MSU)*, 18(1), 35-39. [in Ukrainian]. DOI: 10.32345/2664-4738.1.2022.06
10. Cantiello, M., Carletti, M., Giantin, M., Gardini, G., Capolongo, F., Cascio, P., Pauletto, M., Girolami, F., Dacasto, M., & Nebbia, C. (2022). Induction by Phenobarbital of Phase I and II Xenobiotic-Metabolizing Enzymes in Bovine Liver: An Overall Catalytic and Immunochemical Characterization. *International journal of molecular sciences*, 23(7), 3564. DOI: 10.3390/ijms23073564
11. Badr, A. F., Kurdi, S., Alshehri, S., McManus, C., & Lee, J. (2018). Pharmacists' interventions to reduce sedative/hypnotic use for insomnia in hospitalized patients. *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 26(8), 1204–1207. DOI: 10.1016/j.jsps.2018.07.010
12. Furbish, S. M. L., Kroehl, M. E., Loeb, D. F., Lam, H. M., Lewis, C. L., Nelson, J., Chow, Z., & Trinkley, K. E. (2016b). A Pharmacist–Physician Collaboration to Optimize Benzodiazepine Use for Anxiety and Sleep Symptom Control in Primary Care. *Journal of Pharmacy Practice*, 30(4), 425–433. DOI: 10.1177/0897190016660435
13. Lui, E., Wintemute, K., Muraca, M., Truong, C., Ha, R., Choe, A. K. B., Michell, L., Laine-Gossin, J., Blankenstein, H., Klein, S., Mayer, D., Feder, V., & Greiver, M. (2021). Pharmacist-led sedative-hypnotic deprescribing in team-based primary care practice. *Canadian Pharmacists Journal / Revue des Pharmaciens du Canada*, 154(4), 278–284. DOI: 10.1177/17151635211014918

Article history:

Received: 17.07.2023

Revision requested: 26.07.2023

Revision received: 14.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

PHARMACEUTICAL CARE IS AN IMPORTANT COMPONENT OF THE RATIONAL USE OF
SEDATIVE DRUGS

Temirova O. A., Horodetska N. Y., Khaitovych M. V., Potaskalova V. S.

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

olenatemirova@gmail.com

Background. Stress is one of the most urgent problems of modern society, which determines the increase in the consumption of sedative drugs.

Aim: to analyze the role of pharmaceutical care in ensuring the rational use of sedatives.

Materials and methods. 124 pharmacists and 101 pharmacy visitors were surveyed. The work used methods: standardization, sociological survey, graphics, and statistics.

Results. It was found that almost 80% of respondents reported sleep disorders and anxiety, while only 27% sought help from a specialist. More than 90% of pharmacists confirmed that since the beginning of the military invasion, the number of requests from visitors to dispense sedative drugs, mostly without a doctor's prescription, has increased significantly. Thus, almost 40% of respondents used self-prescription and self-medication of sedatives.

It was found that pharmacists (90%) recommend more often, and visitors (56%) choose herbal sedatives. In addition, 70% of pharmacists noted requests from visitors to dispense the drug hidazepam without a doctor's prescription. When dispensing sedatives, more than half of the surveyed pharmacists do not use the «Symptomatic treatment of stress» protocol. Visitors to pharmacies, who mostly did not receive recommendations on the rules for the use of sedatives, noted the appearance of undesirable reactions after their use, such as drowsiness and weakness during the day (48.8%), sleep disorders (22.0%), dizziness (34.1 %), development of addiction (22.0%).

Conclusion. Providing high-quality pharmaceutical care is a prerequisite for effective and safe sedative therapy. At the same time, it is important to conduct thematic improvement for pharmacists in psychopharmacology.

Keywords: sedative drugs, pharmacists, pharmaceutical care, drug interactions.

ПРОБЛЕМА ПРОГНОЗУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ ГОСТРИХ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ, В ТОМУ ЧИСЛІ ШКІРНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ, У ПРАЦІВНИКІВ АГРОПРОМИСЛОВОГО СЕКТОРУ ПЕРЕД ЗАСТОСУВАННЯМ ІНСЕКТИЦИДІВ

Бардов Г.П. <https://orcid.org/0009-0000-5272-2353>
Вавріневич О.П. <https://orcid.org/0000-0002-4871-0840>

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

elena-vavrinevich@ntnu.ua

Актуальність. Доведено, що застосування пестицидів може становити ризик для здоров'я людини. Ймовірні шляхи впливу: інгаляційний, кризьшкірний або пероральний. Небезпека застосування пестицидів проявляється у негативних ефектах на здоров'я людини, які можуть мати гострий або хронічний характер. Існує ймовірність виникнення ураження шкіри пестицидами при безпосередньому контакті.

Ціль: гігієнічна оцінка виникнення гострих токсичних ефектів, в тому числі шкірних захворювань, у працівників агропромислового сектору перед застосуванням інсектицидів для захисту сільськогосподарських культур.

Матеріали та методи. Прогнозування виникнення гострих токсичних ефектів виконано за коефіцієнтом можливості інгаляційного отруєння (КМІО) та коефіцієнтом вибіркової дії пестициду при інгаляційному та дермальному впливі (КВДінг, КВДд.). Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали з використанням ліцензійного пакету програм IBM SPSS Statistics Base v.22 та програми MS Excel (2000 р.).

Результати. Виникнення гострих інгаляційних отруєнь, а також уражень зумовлених кризьшкірним впливом пестицидів малоімовірне. Досліджувані групи інсектицидів належать до малонебезпечних пестицидів згідно з ДСанПіН 8.8.1.002-98. У більшості випадків в аналізованих пестицидних формуляціях показники КВДінг вищі у порівнянні з величинами КВДдерм, крім препарату РембекДуо (КВДдерм > КВДінг, $p > 0,125$). Отримані результати показали, що практично усі аналізовані формуляції інсектицидів більше небезпечні при дермальному впливі.

Висновки. За результатами власних досліджень та проведеного порівняльного аналізу було встановлено, що виникнення гострих інгаляційних отруєнь, а також уражень зумовлених кризьшкірним впливом пестицидів малоімовірне. Досліджувані групи фунгіцидів та інсектицидів належать до малонебезпечних пестицидів згідно з ДСанПіН 8.8.1.002-98. Небезпека при застосуванні аналізованих інсектицидів достовірно вища при дермальному впливі.

Ключові слова: пестициди, інсектициди, хімічне забруднення виробничого середовища, ризик отруєння, професійні шкірні захворювання.

Актуальність. Доведено, що застосування пестицидів може становити ризик для здоров'я людини. Ймовірні шляхи впливу: інгаляційний, кризьшкірний або пероральний. Небезпека застосування пестицидів проявляється у негативних ефектах на здоров'я людини, які можуть мати гострий або хронічний характер [1, 2].

Серед відомих ефектів впливу пестицидів на здоров'я людини виділяють такі гострі прояви, як запаморочення, головний біль і хронічні ефекти – рак різних локалізацій, порушення роботи органів репродуктивної системи, ендокринні розлади [2], ймовірні розлади печінки

зумовлені професійним контактом з пестицидами [3], доведено вплив пестицидів на дихальну систему працівників [4].

Ціль: гігієнічна оцінка виникнення гострих токсичних ефектів, в тому числі шкірних захворювань, у працівників агропромислового сектору перед застосуванням інсектицидів для захисту сільськогосподарських культур.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Оцінка ризику для людини при застосуванні пестицидів є невід'ємним заходом профілактики негативного їх впливу. Особливо важ-

ливим є прогнозування небезпеки негативного впливу на етапі до застосування пестицидів. На сьогоднішній день рекомендовано використовувати для прогнозування виникнення гострих токсичних ефектів за коефіцієнтом можливості інгаляційного отруєння (КМІО) [5] та коефіцієнтом вибіркової дії пестициду при інгаляційному та дермальному впливі (КВД_{інг.}, КВД_{д.}). Зазначені показники небезпечності були рекомендовані в якості критеріїв відбору для проведення моніторингових досліджень за застосуванням пестицидів [6]. Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали з використанням ліцензійного пакету програм IBM SPSS Statistics Base v.22 та програми MS Excel (2000 р.).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті проведених обчислень (табл. 1) встановлено показник КМІО для аналізованих інсектицидів різних класів: неонікотиніоїдів (тіаметоксам, ацетаміприд, імідаклоприд), піретроїдів (лямбда-цигалотрин, альфа-циперметрин, циперметрин), діамідів (хлорантраніліпрол), фосфорорганічних сполук (хлорпірифос), які входять до складу нових пестицидних формуляцій (Альберто, Апіс, Амплиго, Асетаплан, БомбардирДуо, Воліам-Флексі, ДіагроМакс, ДіагроСтарт, Міледі, Міст-Супер, ОктантТурбо, Октант, Разит, РембекДуо, Сахєб, Твікс, Фастак, Фронда, Ханк, ЮНІ-КС). КМІО інсектицидів класу піретроїди був в діапазоні від $4,87 \times 10^{-08}$ до $5,58 \times 10^{-07}$; неонікотиніоїдів $2,12 \times 10^{-10}$ – $1,37 \times 10^{-08}$; діамідів – $2,44 \times 10^{-16}$, фосфорорганічних сполук – $2,05 \times 10^{-03}$. Отримані результати обчислень показника КМІО свідчать про те, що досліджувані класи інсектицидів є малонебезпечними за цим критерієм і належать до IV класу небезпечності відповідно до ДСанПіН 8.8.1.002-98. Ранжування за показником КМІО аналізованих класів інсектицидів виявило найбільш небезпечними сполуками при інгаляційному впливі – фосфорорганічні сполуки > піретроїди > неонікотиніоїди > діаміди.

Результати обчислень КВД досліджуваних інсектицидних діючих речовин при інгаля-

ційному та дермальному надходженні наведено в табл. 1. Величини КВД при інгаляційному впливі (КВД_{інг.}) неонікотиніоїдів склали $797,03 \pm 305,03$ – $66051,02 \pm 6471,5$, піретроїдів – $64,97 \pm 30,08$ – $791,11 \pm 50,75$, діамідів – $555,22 \pm 28,78$, фосфорорганічних сполук – $1720,60 \pm 1112,83$. Усі аналізовані інсектициди володіють достатньою вибірковістю дії при інгаляційному надходженні.

Величини КВД при дермальному впливі (КВД_{дерм.}) неонікотиніоїдів склали $2923,42 \pm 738,99$ – 29914413 ± 2930960 , піретроїдів – $2777,78 \pm 178,19$ – $6224,28 \pm 2520,58$, діамідів – $3402,08 \pm 176,4$, фосфорорганічних сполук – $134422,15 \pm 86939,79$. Усі аналізовані інсектициди також володіють достатньою вибірковістю дії при дермальному впливі. Порівняльний аналіз отриманих величини КВД при різних шляхах надходження показав, що він достовірно вищий для неонікотиніоїдів (тіаметоксам, ацетаміприд, імідаклоприд), піретроїдів (лямбда-цигалотрин), діамідів (хлорантраніліпрол), фосфорорганічних сполук (хлорпірифос) для інших досліджуваних д.р. відмінності були недостовірні ($p > 0,05$).

Результати аналізу ймовірності виникнення гострих токсичних ефектів для формуляцій аналізованих інсектицидів наведено в табл. 2. Показник КВД_{інг.} Були в діапазоні від $23,12 \pm 5,43$ (РембекДуо) до $39259,26 \pm 5852,42$ (Разит). Отримані результати обчислень свідчать про достатню вибірковістю дії аналізованих інсектицидних препаратів, крім препарату РембекДуо, який має низьку вибірковістю дії.

Показник КВД_{дерм.} для інсектицидних формуляцій коливався від $7,55 \pm 4,12$ (ДіагроСтар) до $2057,61 \pm 411,52$ (Октант). Аналізовані величини свідчать, що більшість препаративних формуляцій аналізованих інсектицидів мають достатню вибірковістю дії, за винятком препаратів ДіагроМакс, ДіагроСтарт, РембекДуо, які володіють низькою вибірковістю дії і можуть спричиняти токсичні ефекти при надходженні через шкіру. У більшості випадків в аналізованих пестицидних формуляціях показники КВД_{інг.} вищі у порівнянні з величинами КВД_{дерм.}, крім препарату РембекДуо ($\text{КВД}_{\text{дерм.}} > \text{КВД}_{\text{інг.}}$, $p > 0,125$), ця відмінність була достовірною у та-

Таблиця 1

Можливість виникнення гострого токсичного ефекту при надходженні діючих речовин досліджуваних інсектицидів

t _{інг - дерм} (p=)	12	2,47(0,090)				2,61(0,024)															
КВД _{дерм}	11	3086,42 1234,57 12345,68 8230,45 6224,28± 2520,58				2057,61 1543,21 6172,84 4115,23 2057,61 1543,21 3858,02 7716,05 8230,45 4938,27 20576,13 41152,26 8663,41±3315,54															
КВД _{інг}	10	328,40 131,36 1313,58 875,72 662,26± 268,19				189,30 141,98 567,90 378,60 189,30 141,98 354,94 709,88 757,20 454,32 1893,00 3786,01 797,03± 305,03															
Норма витрати др, кг/га	9	0,04 0,1 0,01 0,015 0,041±0,02				0,06 0,08 0,02 0,03 0,06 0,08 0,032 0,016 0,015 0,025 0,006 0,003 0,035±0,008															
КМЮ	8	4,87×10 ⁻⁰⁸				M±m	1,37×10 ⁻⁰⁸														M±m
ЛД _{50 дерм} , мг/кг	7	2000					2000														
ЛК _{50 інг} , мг/м ³	6	1330					1150														
Леткість, мг/м ³	5	6,48×10 ⁻⁰⁵					1,58×10 ⁻⁰⁵														
Молекулярна маса	4	416,3					222,67														
Тиск пари, мм рт.ст.	3	2,85×10 ⁻⁰⁹					1,30×10 ⁻⁰⁹														
Препарат	2	Разит	Разит	Фастак	Фастак	Апіс	Апіс	Апіс	Апіс	Асетаплан	Асетаплан	Разит	Разит	Фронда	Фронда	ЮНІ-КС	ЮНІ-КС				
Діюча речовина	1	альфа-циперметрин				ацетаміприд															

12	-* (0,016)							-* <0,001															
11								0,045	15,14	6858,71													
								0,075	9,09	4115,23													
								0,0000015	454320	205761316													
								0,025	27,26	12345,68													
								0,02	34,07	15432,10													
								0,0002	3407,41	1543209,88													
								0,00015	4543,21	2057613,17													
								0,024±0,01	66051,02± 6471,5	29914413± 2930960													
								0,025	26,07	1560,49													
								0,01	65,19	3901,23													
								0,02	32,59	1950,62													
								0,015	43,46	2600,82													
								0,05	13,04	780,25													
								0,2	3,26	195,06													
								0,475	1,37	82,13													
								0,95	0,69	41,07													
								3,18	0,20	12,27													
								0,106	6,15	368,04													
								0,018	36,21	2167,35													
								0,024	27,16	1625,51													
								0,01908	34,16	2044,67													
								0,02544	25,62	1533,50													
								0,0015	434,57	26008,23													
								0,00225	289,71	17338,82													
								0,32±0,20	64,97±30,08	3888,13±1800,54													
8	6,07×10 ⁻¹⁰							5,58×10-07															
7	5000							632															
6	69							66															
5	4,19×10 ⁻⁰⁸							3,68×10-05															
4	255,66							449,85															
3	3,00×10 ⁻¹²							1,50×10-09															
2	М±m							М±m															
	Бомбардир Дуо	Бомбардир Дуо	Міледі	Разит	Разит	Рембек Дуо	Рембек Дуо	Амплиго	Амплиго	Амплиго	Амплиго	Бомбардир Дуо	Бомбардир Дуо	Міст Супер	Міст Супер	Октант Турбо	Октант Турбо	Фронда	Фронда	Ханк	Ханк	ЮНІ-КС	ЮНІ-КС
1	імідаклоприд							лямбда-цигалотрин															

$t_{\text{інг-дерм}}(p=)$	12	3,96 (0,002)													- * (0,008)							
КВД _{дерм}	11	1763,67 1410,93 3086,42 2469,14 6172,84 3086,42 9798,16 4899,08 4938,27 2469,14 291,86 125,08 291,86 125,08													2923,42±738,99 3858,02 3086,42 3858,02 3086,42 3858,02 2805,84 3858,02 2805,84 3402,0±176,4							
КВД _{інг}	10	524,87 419,89 918,52 734,81 1837,04 918,52 2915,93 1457,97 1469,63 734,81 86,86 37,22 86,86 37,22													870,01± 219,93 629,63 503,70 629,63 503,70 629,63 457,91 629,63 457,91 555,22± 28,78							
Норма витрати др, кг/га	9	0,07 0,0875 0,04 0,05 0,02 0,04 0,0126 0,0252 0,025 0,05 0,423 0,987 0,423 0,987													0,23±0,09 0,08 0,1 0,08 0,1 0,08 0,11 0,08 0,11 0,093±0,005							
КМЮ	8	2,12×10 ⁻¹⁰													2,44×10 ⁻¹⁶							
ЛД _{50 дерм} [?] мг/кг	7	2000													5000							
ЛК _{50 інг} [?] мг/м ³	6	3720													5100							
Леткість, мг/м ³	5	7,89×10 ⁻⁰⁷													1,25×10 ⁻¹²							
Молекулярна маса	4	291,71													483,15							
Тиск пари, мм рт.ст.	3	4,95×10 ⁻¹¹													4,73×10 ⁻¹⁷							
Препарат	2	Альберто Альберто Воліам Флексі Воліам Флексі Воліам Флексі Воліам Флексі Міст Супер Міст Супер Октант Октант Октант Турбо Октант Турбо Ханк Ханк													Амплиго Амплиго Амплиго Амплиго Воліам Флексі Воліам Флексі Воліам Флексі Воліам Флексі							
Діюча речовина	1	тіаметоксам													хлорантраніліпрол							

Примітки: 1. др. – діюча речовина; 2. КМО – коефіцієнт інгалаційного отруєння; 3. КВД – коефіцієнт вибіркової дії; 4. М – середнє значення; 5. m – похибка середнього арифметичного; 6. * – порівняння вибірок проводили за Т-критерієм Вілкоксона

Таблиця 2
Можливість виникнення гострого токсичного ефекту при надходженні пестицидних формуляцій досліджуваних інсектицидів

Препарат	1	Альберто			Амплиго								Апіс				Асетаплан			Бомбардир Дуо			
Норма витрати препарату, кг (л)/га	2	0,4	0,6	1,0	0,1	0,15	0,3	0,4	0,1	0,15	0,3	0,4	0,125	0,2	0,1	0,15	0,25	0,28	0,3	0,15	0,25	0,15	0,25
Норма витрати препарату, кг (л)/га, $M \pm m$	3	0,67 $\pm$ 0,18			0,24 $\pm$ 0,05								0,14 $\pm$ 0,02				0,28 $\pm$ 0,02			0,20 $\pm$ 0,03			
ЛК50інг, мг/м ³	4	3600			2910								1150				5500			5000			
ЛД ₅₀ дерм, мг/кг	5	2000			5000								2000				2000			2000			
КВД _{інг.}	6	8888,89	5925,93	3555,56	28740,74	19160,49	9580,25	7185,19	28740,74	19160,49	9580,25	7185,19	9086,42	5679,01	11358,02	7572,02	21728,40	19400,35	18107,00	32921,81	19753,09	32921,81	19753,09
КВД _{інг.} $M \pm m$	7	6123,0 $\pm$ 1543,0			16166,67 $\pm$ 3224,45								8423,87 $\pm$ 1200,98				19917,69 $\pm$ 1810,69			26337,45 $\pm$ 3801,48			
КВД _{дерм.}	8	308,64	205,76	123,46	3086,42	2057,61	1028,81	771,60	3086,42	2057,61	1028,81	771,60	987,65	617,28	1234,57	823,05	493,83	440,92	411,52	823,05	493,83	823,05	493,83
КВД _{дерм.} $M \pm m$	9	212,6 $\pm$ 53,57			1736,11 $\pm$ 346,27								915,64 $\pm$ 130,54				452,68 $\pm$ 41,15			658,44 $\pm$ 95,04			
t _{інг-дерм} (p=)	10	3,97 (0,057)			5,01 (0,002)								7,01 (0,006)				18,60 (0,002)			- * (0,125)			

Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Діагро Макс	2,0 3,5 5,0	3,5±0,87	2000	2000	987,65 564,37 395,06	649,0± 176,2	61,73 35,27 24,69	40,56± 11,02	3,68 (0,066)
Діагро Старт	10,0 20,0 30,0	20,0±5,77	2000	2000	197,53 98,77 65,84	120,7± 39,57	12,35 6,17 4,12	7,55± 4,12	3,05 (0,092)
Воліам Флексі	0,2 0,4 0,3 0,5 0,2 0,4 0,3 0,5	0,35±0,04	5620	5000	27753,09 13876,54 18502,06 11101,23 27753,09 13876,54 18502,06 11101,23	17808,23± 2389,14	1543,21 771,60 1028,81 617,28 1543,21 771,60 1028,81 617,28	990,23± 132,85	- * (0,008)
Міледі	1,0 0,18 0,24 0,18 0,24	1,0	5100	5000	5037,04	-	308,64		
Міст Супер	0,1 0,15 0,2 0,25 0,2 0,25	0,21±0,02	2510	2000	13772,29 10329,22 13772,29 10329,22	12050,75± 993,93	685,87 514,40 685,87 514,40	600,14± 49,49	- * (0,125)
Октант	0,1 0,15 0,2 0,25 0,2 0,25	0,125±0,03	5000	4000	49382,72 32921,81	41152,26± 8230,45	2469,14 1646,09	2057,61± 411,52	5,00 (0,120)
Октант Турбо	0,2 0,25 0,2 0,25	0,225±0,01	5000	2000	24691,36 19753,09 24691,36 19753,09	22222,22± 1425,56	617,28 493,83 617,28 493,83	555,56± 35,64	- * (0,125)

Препарат	1	Разит						Рембек Дуо				Сахеб				Твікс			Фастак			
Норма витрати препарату, кг (л)/га, $M \pm m$	2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	3,0	7,0	3,0	7,0	0,8	1,0	0,8	1,0	0,8	1,1	0,8	1,1	0,1	0,2	0,3
Норма витрати препарату, кг (л)/га, $M \pm m$	3	0,15±0,02						5,0±1,16				0,9±0,06				0,95±0,09			0,2±0,06			
ЛК50інг, мг/м³	4	5300						100				5010				2875,33			2190			
ЛД₅₀дерм, мг/кг	5	4000						5000				2000				3900			2000			
КВД_{інг.}	6	52345,68	26172,84	52345,68	26172,84	52345,68	26172,84	32,92	14,11	32,92	14,11	6185,19	4948,15	6185,19	4948,15	3549,79	2581,67	3549,79	2581,67	21629,63	10814,81	7209,88
КВД_{інг.}	7	39259,26± 5852,42						23,12± 5,43				5566,67± 357,10				3065,73± 279,47			14419± 7209,88			
КВД_{дерм.}	8	2469,14	1234,57	2469,14	1234,57	2469,14	1234,57	102,88	44,09	102,88	44,09	154,32	123,46	154,32	123,46	300,93	218,86	300,93	218,86	1234,57	617,28	411,52
КВД_{дерм.}	9	1851,85± 276,06						73,49± 16,97				138,89± 8,91				259,89± 23,69			823,05± 411,52			
t_{інг-дерм} (p=)	10	- [*] (0,031)						- [*] (0,125)				- [*] (0,125)				- [*] (0,125)			3,05 (0,092)			

ких препаратів як: Амплиго, Апіс, Асетаплан, Воліам Флексі та Разит ($p \leq 0,05$).

Отримані результати показали, що практично усі аналізовані формуляції інсектицидів більше небезпечні при дермальному впливі.

За результатами аналогічних досліджень проведених на території України та аналізу отриманих результатів було встановлено, що для інсектицидів на основі речовин класу кетенолів та похідних авермектинів величини КМІО не перевищують 0,5. КВД при різних шляхах впливу більшості пестицидів були більше 100, що вказує на їх відносну безпечність [7, 8, 9, 10]. Аналогічні дослідження отримано при прогнозуванні небезпеки для працівників при вирощуванні картоплі [10] ягідних. При порівняльному аналізі обраних показників для інсектицидів класу неонікотиніди (тіаметоксаму, ацетаміприду, імідаклоприду) немає достовірних розбіжностей ($p > 0,05$) (табл. 3).

ВИСНОВКИ

За результатами власних досліджень та проведеного порівняльного аналізу було встановлено, що виникнення гострих інгаляційних отруєнь, а також уражень зумовлених кризьшкірним впливом пестицидів малоімовірне. Досліджувані групи інсектицидів належать до малонебезпечних пестицидів згідно з ДСанПіН 8.8.1.002-98. Небезпека при застосуванні аналізованих інсектицидів достовірно вища при дермальному впливі.

Прогнозування небезпеки для здоров'я працівників дозволить моделювати небезпеку для професійних контингентів на етапі до застосування пестицидних формуляцій, а також адекватно обрати заходи щодо профілактики їх небезпечного впливу, в тому числі індивідуального захисту і необхідності проведення моніторингових досліджень.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під

Таблиця 3

Порівняльний аналіз можливості виникнення гострих токсичних ефектів при надходженні інсектицидів

Клас пестицидів	КМІО	t вд-л (p=)	КВД _{інг.} M±m	t вд-л (p=)	КВД _{дерм.} M±m	t вд-л (p=)	t _{інг-дерм} (p=)	Джерело
Неонікотиніди	$7,6 \times 10^{-9} \pm 8,6 \times 10^{-8}$ ($2,1 \times 10^{-10}$ - $2,1 \times 10^{-7}$)	0,786 ¹	70,7±625,2 (40,82-1552,02)	0,510 ¹	237,4±1396,0 (137,2-3527,3)	0,071 ¹	<0,001 ¹	Л [9, 10]
	$6,1 \times 10^{-10} \pm 1,43 \times 10^{-9}$ ($2,1 \times 10^{-10}$ - $1,4 \times 10^{-8}$)		524,9±17220 (189,3-918,5)		$4,1 \times 10^3 \pm 7,8 \times 10^6$ (2469,1-6858,7)			ВД

Примітки: 1. Л – дані літератури; 2. ВД – власні дослідження; 3. КМІО – коефіцієнт можливості інгаляційного отруєння; 4. КВД - коефіцієнт вибіркової дії; 5. M – медіана; 6. m – похибка медіани; 7. «1» – достовірність розрахована за W-критерієм Вілкоксона; 8. «*» – 95% довірчий інтервал.

час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Minuț M., Roșca M., Cozma P., Gavrilăscu M.. Identification Of Impacts And Human Health Risks Produced By The Presence Of Pesticides In The Environment II. Human Health Risks Generated By The Presence Of Pesticides In Plant Products Annals of the Academy of Romanian Scientists Series on Physics and Chemistry.2022;2:120-146. DOI: 10.56082/annalsarsciphyschem.2022.2.120
2. Mishra A.K., Arya R., Tyagi R., Grover D., Mishra J., Vimal S.R., Mishra S., Sharma S. Non-Judicious Use of pesticides Indicating Potential Threat to Sustainable Agriculture. Chapter 14. Sustainable Agriculture Reviews 50;2021. DOI: 10.1007/978-3-030-63249-6_14
3. Lozano-Paniagua D., Parron T., Alaron R., Requena M., Lopez-Guarnido O., Lasana M., Hernandez A.F. Evaluation of conventional and non-conventional biomarkers of liver toxicity in greenhouse workers occupationally exposed to pesticides. Food and Chemical Toxicology.2021;151:112-127. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112127
4. Nasrul I. Shaikh, R S Sethi Pesticides and respiratory health of farmers. Available on: https://www.researchgate.net/publication/358098217_Pesticides_and_respiratory_health_of_farmers
5. SSanRN 8.8.1.002-98. [Hygienic classification of pesticides by hazard]. 1998; Approv. By Ministry of health of Ukraine [in Ukrainian] Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/va002282-98#Text>
6. Vavrinevych O.P. [Hygienic substantiation for selection criteria for fungicides monitoring in agro-industrial complex of Ukraine]. Environment and health.2019;1:4-9. [in Ukrainian] DOI: 10/32402/dovkil2019.01.004
7. Tkachenko I., Antonenko A. [Risk assessment and prediction of the possibility of acute toxic effects on workers when applying Oberon Rapid 240 SC]. Ukrainian Scientific Medical Youth Journal.2021;4(127):124-128. [in Ukrainian] DOI: 10.32345/USMYJ.4(127).2021.124-128
8. Antonenko A.M. Prognosing the development of acute intoxications in agricultural workers in application of fungicides on the basis of active ingredients – f monooxygenase liver system inductors. Ukrainian Journal of Occupational Health. 2018;1(54):57–60. [in Ukrainian] Available on: <http://ir.library.nmu.com/handle/123456789/701>
9. Stavnichenko P.V., Antonenko A.M., Bardov V.G. Forecasting of development of acute poisoning in agricultural workers while using combined formulation based on difenoconazole. Journal “Medicni perspektivi”. 2017;XXII(3):116-120. [in Ukrainian] Available on: file:///C:/Users/Admin/Downloads/Mp_2017_22_3_20-1.pdf
10. Novohatska O.O. Прогнозування розвитку гострих отруєнь у сільськогосподарських працівників при використанні пестицидів в системі хімічного захисту картоплі. Ukrainian Scientific Medical Youth Journal. 2017;2(101):20-24. [in Ukrainian] Available on: file:///C:/Users/Admin/Downloads/Unmmj_2017_2_6.pdf

Поступила в редакцію 30.05.2023

Article history:

Received: 30.05.2023

Revision requested: 06.06.2023

Revision received: 04.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

THE PROBLEM OF PREDICTING THE OCCURRENCE OF ACUTE TOXIC EFFECTS, INCLUDING SKIN DISEASES, OF AGRICULTURAL WORKERS BEFORE APPLYING INSECTICIDES

Bardov H.P., Vavrinevych O.P.

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

elena-vavrinevich@nmu.ua

Background. It has been proven that the using of pesticides can lead to the human health problems. Possible way of exposure: inhalation, transdermal or oral. The danger of using pesticides is manifested by acute or chronic effects. There is a possibility of skin damage by pesticides upon direct contact.

Aim: hygienic assessment of the occurrence of acute toxic effects, including skin diseases, among agricultural workers before applying insecticides for agricultural crops protection.

Materials and methods. Prediction of the occurrence of acute toxic effects was carried out by the coefficient of possible of inhalation poisoning (CPIP) and the coefficient of selective action of the pesticide in case of inhalation and dermal exposure (CSAing., CSAd.). Statistical analysis of the obtained results was carried out using the IBM SPSS Statistics Base v.22 license package and the MS Excel program (2000).

Results. The occurrence of acute inhalation poisoning, as well as health problem caused by percutaneous exposure of pesticides, has low possibilities. The investigated groups of insecticides belong to low-hazard pesticides according to SSanRN 8.8.1.002-98. CSAing. indicators of analyzed pesticide formulations are higher then CSAd. values, except for RembekDuo (CSAd > CSAing, $p > 0.125$). The obtained results showed that almost all analyzed insecticide formulations are more dangerous with dermal exposure.

Conclusion. It was established that the occurrence of acute inhalation poisonings, as well as health problem caused by percutaneous exposure to pesticides has low possibilities according results of our own research and comparative analysis. The investigated groups of insecticides belong to low-hazard pesticides according to DSanPiN 8.8.1.002-98. The danger when using the analyzed insecticides is significantly higher with dermal exposure..

Key words: pesticides, insecticides, chemical pollution of working zone, risk poisoning.

ЕФЛЮКСНІ ПОМПИ ЯК ФАРМАКОЛОГІЧНА МІШЕНЬ ДЛЯ ПРОТИДІЇ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

Хайтович М.В. <https://orcid.org/0000-0001-6412-3243>

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

nik3061@gmail.com

Актуальність. Антибіотикорезистентність – стійкість бактерій до антимікробних препаратів, до яких раніше вони були чутливими. Особлива небезпека полягає у поширенні мультирезистентної інфекції, пов'язаної із наданням медичної допомоги, з групи «ESKAPE». Серед механізмів антибіотикорезистентності даних бактерій особливу увагу викликає активація ефлюксних pomp.

Ціль: розглянути сучасні дані щодо можливості використання ефлюксних pomp, як мішеней для фармакологічного впливу для подолання антибіотикорезистентності.

Матеріали та методи. Аналіз даних, представлених в PubMed, за ключовими словами «антимікробна резистентність», «ефлюксні помпи», «інгібітори ефлюксних pomp».

Результати. Мультилікарські ефлюксні помпи є трансмембранними білками-транспортерами, які розташовані в мембрані бактеріальної клітини та периплазмі, вони природним чином експресуються, видаляючи більшість клінічно значимого антибіотика із внутрішнього середовища клітини у зовнішнє середовище, зменшуючи внутрішньоклітинну його концентрацію. Перспективним є комбінування окремих антибіотиків із інгібіторами ефлюксних pomp, це дозволяє зменшити терапевтичну дозу антибіотиків, попередити формування бактеріальних біоплівки. Представлено результати вивчення ефективності в якості інгібіторів ефлюксних pomp деяких лікарських засобів: сертраліну, триметоприму, тіоридазину, диклофенаку натрію, ібупрофену, нітрогліцерину, метформіну, верапамілу. Перспективним є використання сполук, отриманих з рослин (так берберин, артезунат і куркумін пригнічують активність ефлюксної помпи грамнегативних бактерій *E. coli* і *P. aeruginosa*), овочів (зокрема, *Momordica balsamina*), насіння розторопші, перця, кмину, ефірних олій тощо.

Висновок. Таким чином, інгібування ефлюксних pomp може бути потенційним способом покращення активності антибіотиків. Перевагою інгібіторів ефлюксних pomp є складність розвитку у бактерій резистентності проти них. Доцільно проводити дослідження *in vivo* для підтвердження їх активності та клінічної ефективності.

Ключові слова: антимікробна резистентність, ефлюксні помпи, інгібітори ефлюксних pomp.

Актуальність. Резистентність до антимікробних препаратів (АМР) стала серйозною проблемою в охороні здоров'я, так лише у 2019 році АМР спричинила приблизно 4,95 мільйонів смертей [1].

АМР виникає, коли такі мікроорганізми, як бактерії, віруси, паразити або грибки, стають стійкими до антимікробних препаратів, до яких вони раніше були чутливі. АМР може бути внутрішньою та набутою. Внутрішня АМР –

це природне явище, обумовлене генетично або хромосомно, яке не залежить від попереднього впливу антибіотиків. Набута резистентність є еволюційною реакцією мікроорганізмів через мутацію або, у випадку бактерій, шляхом отримання ДНК від різних мікроорганізмів через горизонтальний перенос генів або мобільних генетичних елементів. Збільшення вживання антимікробних препаратів або дія інших факторів (важких металів та інших забруднюючих

речовин) створює сприятливі умови для розвитку набутої резистентності мікроорганізмів. Це може відбуватись в шлунково-кишковому тракту людей і тварин або в навколишньому середовищі (наприклад, воді та ґрунті) [2]. Група всіх внутрішніх і набутих генів АМР, які разом переносяться мікроорганізмами, що населяють певну екологічну нішу, формує резистом цього середовища [3].

Мультирезистентні бактерії мають набути нечутливість принаймні до 1 лікарського засобу з 3 або більше класів антимікробних препаратів. Дані бактерії становлять особливо складну проблему через брак нових активних антибіотиків [4]. Зокрема це обумовлено тим, що більшість антибіотиків, які зараз використовуються, були розроблені понад півстоліття тому або є похідними «старих» препаратів – так звані «покоління» цефалоспоринів, фторхінолонів, макролідів тощо [5].

Як відомо поширеними патогенами, відповідальними за інфекції, пов'язані із наданням медичної допомоги, та розвиток резистентності до більшості протимікробних препаратів є група патогенів «ESKAPE» (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Enterobacter spp.*) [6]. Основними механізмами їх резистентності у протистоянні впливу антимікробних засобів є непроникність зовнішньої мембрани; продукція ферментів, що знешкоджують антимікробні засоби; модифікація мішеней; ефлюксні помпи [7]. Останнього часу резистентність, опосередкована ефлюксною помпою, вважається провідною стратегією, розробленою бактеріями для протидії впливу антибіотиків [8].

Ціль: розглянути сучасні дані щодо можливості використання ефлюксних помп, як мішеней для фармакологічного впливу, для подолання антибіотикорезистентності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Аналіз даних, представлених в PubMed, за ключовими словами «антимікробна резистентність», «ефлюксні помпи», «інгібітори ефлюксних помп».

Механізм дії ефлюксної помпи. Мультикарські ефлюксні помпи є трансмембранними білками-транспортерами, які розташовані в мембрані бактеріальної клітини та периплазмі [1], вони природним чином експресуються, видаляючи більшість клінічно значимого антибіотика із внутрішнього середовища клітини у зовнішнє середовище [4], зменшуючи внутрішньоклітинну його концентрацію [9].

Описано п'ять різних функціональних родин ефлюксних помп: родина незначної множинної резистентності (small multidrug resistance, SMR) (зараз – частина суперродини транспортера лікарських засобів/метаболітів, drug/metabolite transporter, DMT); родина АТФ-зв'язаного касетного транспортера (ATP-binding cassette, ABC); родина транспортних протеїнів resistance/nodulation/division, RND; родина білків, які здійснюють викидання багатьох лікарських засобів та токсичних сполук (multidrug and toxic compound extrusion, MATE). Доведено, що резистентність *Staphylococcus aureus* обумовлена дією таких помп, як QacA-D, Smr, QacG та QacH; *Pseudomonas aeruginosa* – MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN та MexJK; *Escherichia coli* – AcrAB-TolC, AcrEF-TolC та EmrE [10]. Так, наприклад, труднощі в лікуванні *Pseudomonas aeruginosa* виникають через наявність активних ефлюксних помп сімейства RND. Ці помпи можуть також видаляти миючі засоби та інші метаболічні інгібітори [11]. Із резистентністю *Acinetobacter baumannii* до карбапенемів пов'язують активність помп SHV-12, PER-1, TEM-1, OXA-23 і AdeABC [12].

Субстрати різних ефлюксних помп представлено в таблиці 1. Всі ефлюксні помпи можуть викидати тетрацикліни, макроліди, більшість – фторхінолони, лінкозаміди, хлорамфенікол, аміноглікозиди [13].

Добре досліджено ефлюксну помпу грамнегативних бактерій, яка являє собою трикомпонентний комплекс MacAB-TolC, що складається з зовнішнього мембранного білка TolC, внутрішнього мембранного білка MacB, периплазматичного білка MacA (рис. 1), який активно видаляє субстрати, включаючи макроліди та поліпептидні фактори вірулентності. Білок внутрішньої мембрани MacB працює як

Таблиця 1

Бактеріальні ефлюксні помпи та їх основні субстрати [13]

Помпи	Субстрати	Антибіотики
SMR	Гідрофільні, мультикатійні	Тетрацикліни, еритроміцин, сульфадіазин
RND	Амфipатичні заряджені	Тетрацикліни, фторхінолони, еритроміцин, рифампіцин, фузидинова кислота, бета-лактами, хлорамфенікол, аміноглікозиди
MFS	Амфipатичні, монокатіонні, дикатіонні	Тетрацикліни, фторхінолони, еритроміцин, рифампіцин, лінкозаміди, хлорамфенікол, аміноглікозиди
MDR	Амфipатичні нейтральні	Тетрацикліни, фторхінолони, макроліди, рифампіцин, лінкозаміди, хлорамфенікол, аміноглікозиди
MRP	Органічні аніонічні	Тетрацикліни, фторхінолони, макроліди

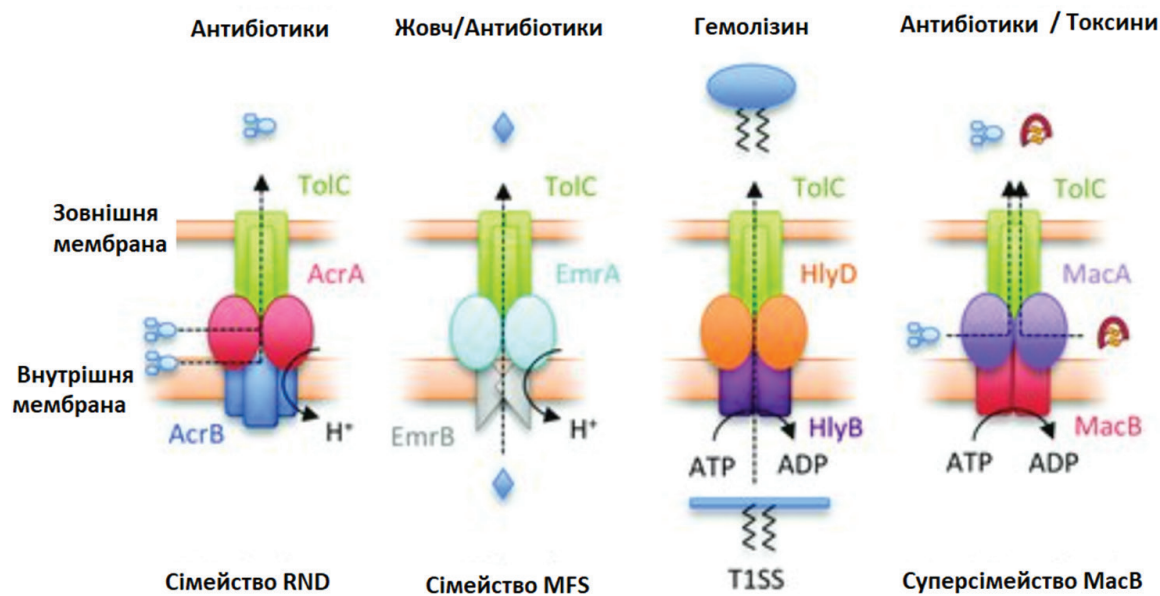


Рис.1. Класи трикомпонентних ефлюксних помп. RND - Resistance-Nodulation-Cell Division AcrAB-TolC, MFS - Major Facilitator Superfamily EmrAB-TolC; T1SS - Type I secretion system HlyBD-TolC; MacAB-TolC - MacB superfamily pump [14].

гомодимерний комплекс, який містить N-кінцевий нуклеотидзв'язуючий домен, що зв'язує АТФ і С-кінцевий цитоплазматичний хвіст. Мембранний злитий білок MacA специфічно зв'язує ядро ліпополісахариду та активується АТФ-азою [14].

На рис. 2 схематично представлено робота ефлюксної помпи AcrAB-TolC [15].

AcrB сприяє рушійній силі протонів, як джерелу енергії для викидання антибіотиків із периплазми або внутрішньої мембрани назовні клітини. Препарати транспортуються послідовно від мономеру Вхідження до мономеру Зв'язування, а потім до мономеру Витіснення (виведення). Виявлено кишеньку для розпізнавання лікарських засобів біля входу, яка на-

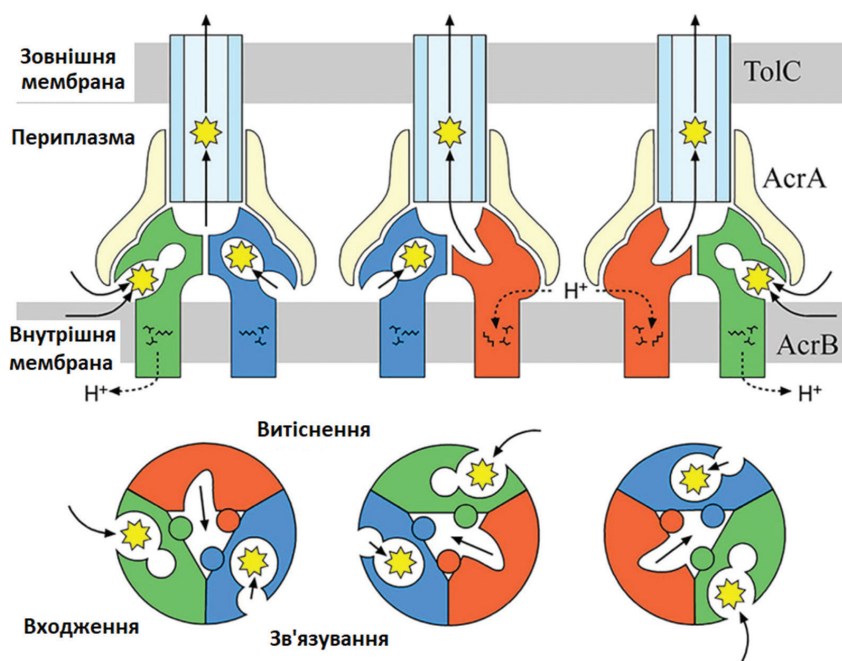


Рис. 2. Транспортування ліків через систему відтоку кількох лікарських засобів AcrAB-TolC [15].

зивається проксимальною зв'язуючою кишенню (PBP, розширена в мономері Входування), і дистальну зв'язувальну кишенню (DBP) біля виходу (розширена в мономері Зв'язування). Так, наприклад, еритроміцин (молекулярна маса: 734 г моль⁻¹) і рифампіцин (молекулярна маса: 823 г моль⁻¹), два препарати з відносно великою молекулярною масою, тимчасово зв'язуються з PBP, потім вони надсилаються до DBP через перистальтичний помповий механізм [16].

Вважається, що ефлюксні помпи значною мірою сприяють також утворенню біоплівки, відчуттю кворуму бактерій, їх виживанню та патогенності [9].

Активация ефлюксних помп. Центральну роль в АМР відіграє надмірна експресія ефлюксних помп кількох лікарських засобів [17]. Так, було доведено, що карбапенем-резистентна *Acinetobacter baumannii*, яка виділена у відділенні дитячої реанімації та інтенсивної терапії, характеризувалась вищою експресією генів ефлюксних помп AdeABC і AdeFGH [18].

Надмірна експресія ефлюксної помпи MexAB-OprM, що є наслідком амінокислотних мутацій у регуляторах MexR, NalC або NalD, була основним фактором, що сприяла перехресній антибіотикорезистентності [19].

В активації ефлюксних помп велике значення має попереднє використання антибактеріальних засобів. Так, субінгібуюча концентрація хлоргексидину викликала експресію ефлюксної помпи MexXY *P. aeruginosa* та перехресну антибіотикорезистентність [20]. Як відомо, фторхінолони є найбільш ефективними антибіотиками проти *P. aeruginosa* [21], але вони підвищують генну експресію ефлюксних помп, що обумовлює резистентність бактерій проти антибіотиків [22]. Так, доведено, що після вживання фторхінолонів середня експресія генів MexB, MexD, MexF і MexY *P. aeruginosa* зростає відповідно в 1,6, 4,65, 3,4 і 3,68 рази [22].

Можливо це пояснює, чому після зменшення вживання фторхінолонів в клініці через декілька років знижується поширення MRSA та фторхінолон-резистентної *P. aeruginosa* [23].

Високий рівень резистентності до ципрофлоксацину у пацієнтів із інфекцією сечових шляхів виявлений у 97,5% ізолятів *E. faecalis*. Експресія генів ефлюксних помп efrA, emeA та efrB була продемонстрована у 50%, 40% та 30% резистентних ізолятів відповідно [24].

У ізолятів *K. pneumoniae* був виявлений зв'язок між стійкістю до ципрофлоксацину та геном oqxV, а також між резистентністю

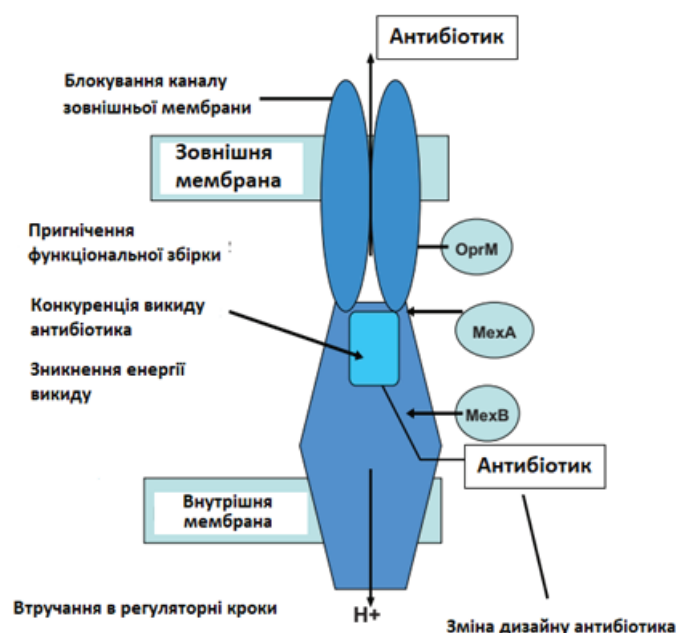


Рис. 3. Схема загальних механізмів пригнічення ефлюксної помпи та цілі, на які можна впливати, використовуючи як приклад ефлюксну помпу MexAB-OprM [11].

до цефтріаксону й хлорамфеніколу та геном *oqxA*. Експресія гена *oqxA* була вищою у ізолятів, резистентних до ципрофлоксацину [25].

Інгібіція ефлюкських pomp як метод подолання антимікробної резистентності.

Доведено, що ефлюкські помпи є привабливими мішенями для відновлення сприйнятливості до антибіотиків шляхом погіршення їхньої ефлюксної активності [4]. Так, встановлено, що пригнічення ефлюксної помпи MexAB-OprM ліквідувало перехресну антибіотикорезистентність, що була наслідком амінокислотних мутацій у регуляторах MexR, NalC або NalD [18].

Інгібітори ефлюксної помпи – це молекули (синтетичні або рослинні), які можуть пригнічувати ефлюксну помпу; їх вважають потенційними терапевтичними засобами для омолодження активності антибіотиків, які вже втратили свою дію проти бактерій (наприклад, поліміксинів). Застосування інгібітора ефлюксної помпи скасувало резистентність до хлоргексидину у більшості ізолятів *P. aeruginosa* [20]. Зрозуміло, що ефлюкські насоси можуть бути мішенями також і для нових антимікробних агентів [11].

Описано вісім сімейств інгібіторів ефлюкських pomp, активних проти *Escherichia coli* або

Pseudomonas aeruginosa [1]. Розглянемо їх механізми дії. Так, модифікація структури лікарського засобу призводить до дефекту його розпізнавання ефлюксною помпою; пригнічення експресії гена ефлюксної помпи знижує її активність і підвищує внутрішньоклітинну концентрацію антибіотика; останнє також досягається за допомогою засобів, що підвищують мембранну проникність для антибіотика. Деякі інгібітори можуть порушити функціональну збірку ефлюкських pomp, тим самим змінюючи механізм відтоку. Оскільки всі ефлюкські помпи енергозалежні, порушення утворення АТФ суттєво вплине на рівень енергозабезпечення та, як наслідок, зменшить виведення антибіотиків з бактеріальної клітини. Також використовуються як конкурентні, так і неконкурентні блокатори pomp, блокатори каналів виведення лікарських засобів. Крім того, деякі інгібітори можуть націлюватися на білки зовнішньої та внутрішньої мембран pomp RND [14]. На рис.3 представлено деякі із зазначених механізмів впливу ефлюкських pomp.

Активність ефлюксної помпи також залежить від метаболізму бактерій, стійких до багатьох лікарських засобів. Уповільнений експорт антибіотиків через ефлюксну помпу може вплинути на метаболізм бактерій. Тому вплив

на гени, які регулюють метаболізм бактерій і генерують активність ефлюксної помпи, може змінити стійкість до антибіотиків [26].

Ці підходи дають можливість створювати інноваційні агенти, які можуть вибірково та ефективно блокувати ефлюксний насос [14].

Інгібування ефлюксних pomp може бути корисною стратегією для покращення ефективності антибіотиків, які впливають на внутрішньоклітинні бактерії, якщо можна підвищити вміст антибіотика в компартменті, де перебувають бактерії [27],

Інгібітори ефлюксних pomp зазвичай активні проти одного або кількох ефлюксних pomp від різних *Enterobacteriaceae* (PaβN, NMP, NCS, D13-9001, MBX, BDM), тоді як деякі також мають розширений спектр дії щодо *P. aeruginosa* та/або *A. baumannii* (PaβN, NMP, D13-9001 та TXA) [1].

Перспективним є комбінування окремих антибіотиків із препаратами інгібіторами ефлюксної помпи [28] для посилення первинного ефекту; це забезпечує гнучкість комбінованої терапії, її синергізм. Встановлено, що при одночасному застосуванні інгібіторів ефлюксної помпи з антибіотиками терапевтичну дозу антибіотиків можна зменшити [29].

Так, кілька сполук підвищили чутливість бактерій до налідиксової кислоти, хлорамфеніколу та спарфлоксацину та були додатково фармакомодульовані для отримання вищої активності проти бактерій, що продукують AcrAB [4].

Доведено роль інгібіторів ефлюксних pomp у попередженні формування бактеріальних біоплівки [30].

Результати дослідження ефективності та безпеки застосування інгібіторів ефлюксних pomp.

Встановлено, що танінова кислота, діючи як інгібітор мультикарських ефлюксних pomp Tet і Msr та інших *S. aureus*, суттєво значно знижує МІК таких препаратів, як тетрациклін і еритроміцин [31].

Комбінація інгібіторів ефлюксних pomp триметоприму та сертраліну з левофлоксацином у випадку надмірної експресії помпи MexAB-OprM у *P. aeruginosa* продемонструва-

ла більшу ефективність порівняно з монотерапією левофлоксацином [31].

Пептидоміметична сполука фенілаланін аргініл b-нафтиламід (PAbN) є інгібітором ефлюксних pomp у грамнегативних бактерій, таких як комплекс AcrAB-TolC у *E. coli*. PAbN виявляє свою активність як інгібітор ефлюксної помпи при низьких дозах без пермеабілізації зовнішньої мембрани, дозозалежно посилюючи антибактеріальну активність азитроміцину щодо *E. coli* [32]. Взаємозв'язок між структурою та активністю цих сполук указав на інші похідні від PAbN, які є сильнішими за свою активністю з вищою розчинністю в біологічних рідинах і зниженим рівнем токсичності.

Похідні арилгідантоїну, пригнічуючи експресію помпи AcrAB, посилювали активність антибіотиків, субстратів ефлюксу у *Enterobacter aerogenes* [4].

Доведено, що біосинтезовані наночастинки срібла пригнічують експресію генів *oxqAB* [33].

Ібупрофен знижував вірулентний потенціал *P. aeruginosa* при монотерапії та в комбінації з ципрофлоксацином, через зменшення експресії генів *mexB* та *oprM*, досягаючи зменшення на 65% формування біоплівки, на 85% – гемолітичної активності [34].

Верапаміл збільшував клітинне накопичення азитроміцину майже в 2,4 рази, не змінюючи його субклітинний розподіл. Він не покращував його максимальну активність, але дозволив йому досягти подібного ефекту при позаклітинних концентраціях приблизно в сім разів нижчих. Гемфіброзил збільшив активність ципрофлоксацину проти *L. monocytogenes* майже в 2,5 рази, але не проти *S. aureus*. При цьому гемфіброзил збільшив загальне накопичення ципрофлоксацину приблизно в 2,4 рази, але надлишок був виявлений лише в цитозолі [27].

Диклофенак натрію, домперидон і нітригліцерин продемонстрували вищу інгібіторну дію на ефлюкс, порівняно з верапамілом і метформіном [35].

Тіоридазин виявляв ефективність проти *M. tuberculosis*. Він пригнічував його ефлюксні помпи та блокував його дихальний ланцюг [36].

На додаток до хороших протизапальних і антибактеріальних ефектів, сполуки, отрима-

ні з рослин, включаючи берберин, артесунат і куркумін, пригнічують активність ефлюксної помпи грамнегативних бацил *E. coli* і *P. aeruginosa* [37].

Чудовими джерелами інгібіторів ефлюкських помп вважаються овочі (наприклад, *Momordica balsamina*), насіння (наприклад, насіння розторопші), спеції (наприклад, перець і кмин), ефірні олії, отримані з ароматичних рослин (наприклад, транс-коричний альдегід і евгенол) тощо [38].

ВИСНОВОК

Таким чином, інгібування ефлюкських помп може бути потенційно перспективним способом покращення активності антибіотиків, особливо в наш час, коли стає надзвичайно складно відкривати нові антибіотики. Перевагою інгібіторів ефлюкських помп є важкість розвитку у бактерій проти них резистентності. Серед бар'єрів їх широкого впровадження в клінічну практику інгібіторів ефлюкських помп токсичні властивості деяких з них та недостатня кількість випробувань *in vivo*.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

- Compagne N, Vieira Da Cruz A; Müller RT, Hartkoorn RC, Flipo M, Pos KM. Update on the Discovery of Efflux Pump Inhibitors against Critical Priority Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*. 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12010180
- United Nations Environment Programme. Bracing for Superbugs: Strengthening environmental action in the One Health response to antimicrobial resistance. 2023. Geneva. 89 p. Available on: <https://www.unep.org/resources/superbugs/environmental-action>.
- Perry J, Waglechner N, Wright G. The prehistory of antibiotic resistance. Cold Spring Harbor. *Perspectives in Medicine*. 2016. DOI: 10.1101/cshperspect.a025197
- Otrebska-Machaj E, Chevalier J, Handzlik J, Szymanska E, 'Schabikowski J, Boyer G, et al. Efflux Pump Blockers in Gram-Negative Bacteria: The New Generation of Hydantoin Based-Modulators to Improve Antibiotic Activity. *Front. Microbiol*. 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00622
- Amábile-Cuevas CF. Myths and Misconceptions around Antibiotic Resistance: Time to Get Rid of Them. *Infect Chemother*. 2022. DOI: 10.3947/ic.2022.0060
- Getahun YA, Ali DA, Taye BW, Alemayehu YA. Multidrug-Resistant Microbial Therapy Using Antimicrobial Peptides and the CRISPR/Cas9 System. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 2022. DOI: 10.2147/VMRR.S366533
- Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*. 2013. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.009
- Yu XH, Hao ZH, Liu P, Liu MM, Zhao LL, Zhao X. Increased Expression of Efflux Pump *norA* Drives the Rapid Evolutionary Trajectory from Tolerance to Resistance against Ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2022. DOI: 10.1128/aac.00594-22.
- Huang L, Wu C, Gao H, Xu C, Dai M, Huang L. et al. Bacterial Multidrug Efflux Pumps at the Frontline of Antimicrobial Resistance: An Overview. *Antibiotics* 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11040520.
- Salmanov A.G., Shcheglov D.V., Artyomenko V.V., Mamonova M.Yu., Ushkalov V.O. Containment of Antimicrobial Resistance on the 'One Health' approaches. Kyiv: AgrarMedia-Group; 2022. 380 p. ISBN 978-617-646-517-1 [In Ukrainian].
- Askoura M, Mattawa W, Abujamel T, Taher I. Efflux pump inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*, *Libyan Journal of Medicine* 2011. DOI: 10.3402/ljm.v6i0.5870.

12. Zhu L-J, Pan Y, Gao C-Y, Hou P-F. Distribution of Carbapenemases and Efflux Pump in Carbapenem-resistance *Acinetobacter baumannii*. *Ann Clin Lab Sci*. 2020. Available on: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32366563>
13. Seukep AJ, Mbuntcha HG, Kuete V, Chu Y, Fan E, Guo M.-Q. What Approaches to Thwart Bacterial Efflux Pumps-Mediated Resistance? *Antibiotics* 2022. DOI: 10.3390/antibiotics1110128
14. Greene NP, Kaplan E, Crow A, Koronakis V. Antibiotic Resistance Mediated by the MacB ABC Transporter Family: A Structural and Functional Perspective. *Front. Microbiol*. 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00950
15. Alenazy R. Drug Efflux Pump Inhibitors: A Promising Approach to Counter Multidrug Resistance in Gram-Negative Pathogens by Targeting AcrB Protein from AcrAB-TolC Multidrug Efflux Pump from *Escherichia coli*. *Biology* 2022. DOI: 10.3390/biology11091328
16. Nishino K, Yamasaki S, Nakashima R, Zwama M, Hayashi-Nishino M. Function and Inhibitory Mechanisms of Multidrug Efflux Pumps. *Front. Microbiol*. 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737288
17. Xiong L, Wang X, Wang Y, Yu W, Zhou Y, Chi X. et al. Molecular mechanisms underlying bacterial resistance to ceftazidime/avibactam. *WIREs Mech Dis*. 2022. DOI: 10.1002/wsbm.1571
18. Xu CF, Xu W. Drug resistance of *Acinetobacter baumannii* in pediatric intensive care unit. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2021. DOI: 10.3760/cma.j.cn112140-20210117-00053
19. Amsalu A, Sapula SA, Lopes M. de B., Hart BJ, Nguyen AH, Drigo B. et al. Efflux Pump-Driven Antibiotic and Biocide Cross-Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Different Ecological Niches: A Case Study in the Development of Multidrug Resistance in Environmental Hotspots. *Microorganisms*. 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8111647.
20. ElDein MAT, Yassin AS, El-Tayeb O, Kashef MT. Chlorhexidine leads to the evolution of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021 Nov. doi: 10.1007/s10096-021-04292-5.
21. Al Rashed N, Joji RM, Saeed NK, Bindayna KM. Detection of overexpression of efflux pump expression in fluoroquinolone resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Int J App Basic Med Res* 2020. DOI: 10.4103/ijabmr.IJAB-MR_90_19.
22. van der Heijden Y F, Maruri F, Blackman A, Morrison R, Guo Y, Sterling TR. Mycobacterium tuberculosis gene expression associated with fluoroquinolone resistance and efflux pump inhibition. *J Infect Dis*. 2023 Apr. DOI: 10.1093/infdis/jiad112.
23. Lafaurie M, Porcher R, Donay J-L, Touratier S, Molina J-M. Reduction of fluoroquinolone use is associated with a decrease in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolation rates: a 10 year study. *J Antimicrob Chemother*. 2012. DOI: 10.1093/jac/dkr555.
24. Esfahani S, Ahmadrabji R, Mollaei H, Saffari F. Co-Incidence of Type II Topoisomerase Mutations and Efflux Expression in High Fluoroquinolone Resistant *Enterococcus faecalis* Isolated from Urinary Tract Infections. *Infection and Drug Resistance* 2020. DOI: 10.2147/IDR.S237299. eCollection 2020.
25. Amereh F, Arabestani MR, Shokoohizadeh L. Relationship of OqxAB efflux pump to antibiotic resistance, mainly fluoroquinolones in *Klebsiella pneumoniae*, isolated from hospitalized patients. *Iran J Basic Med Sci* 2023. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.67095.14714
26. Hillman T. Reducing bacterial antibiotic resistance by targeting bacterial metabolic pathways and disrupting RND efflux pump activity. *Iberoamerican Journal of Medicine*. 2022. DOI: 10.53986/ibjm.2022.0008
27. Seral C, Carryn S, Tulkens PM, Van Bambeke F. Influence of P-glycoprotein and MRP efflux pump inhibitors on the intracellular activity of azithromycin and ciprofloxacin in macrophages infected by *Listeria monocytogenes* or *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003. DOI: 10.1093/jac/dkg223

28. Kaynak Onurdağ F, Kayış U, Ökten S. Acinetobacter baumannii izolatlarında fenilalanin-arginin-beta-naftilamidin siprofloksasinin mik değerleri ve dışa atım pompası genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi. Mikrobiyol Bul 2021. DOI: 10.5578/mb.20219801
29. Prasch S, Bucar F. Plant derived inhibitors of bacterial efflux pumps: An update. Phytochem. Rev. 2015. DOI: 10.1007/s11101-015-9436-y
30. AlMatar M, Albarri O, Makky EA, Köksal F. Efflux pump inhibitors: new updates. Pharmacol Rep. 2021 Feb. DOI: 10.1007/s43440-020-00160-9
31. Adamson DH, Krikstopaityte V, Coote PJ. Enhanced efficacy of putative efflux pump inhibitor/antibiotic combination treatments versus MDR strains of Pseudomonas aeruginosa in a Galleria mellonella in vivo infection model. J. Antimicrob. Chemother. 2015. DOI: 10.1093/jac/dkv111
32. Al-Marzooq F, Ghazawi A, Daoud L, Tariq S. Boosting the Antibacterial Activity of Azithromycin on Multidrug-Resistant Escherichia coli by Efflux Pump Inhibition Coupled with Outer Membrane Permeabilization Induced by Phenylalanine-Arginine β -Naphthylamide. Int. J. Mol. Sci. 2023. DOI: 10.3390/ijms24108662
33. Dolatabadi A, Noorbazargan H, Khayam N, Moulavi P, Zamani N, Lalami ZA, Ashrafi F. Ecofriendly Biomolecule-Capped Bifidobacterium bifidum-Manufactured Silver Nanoparticles and Efflux Pump Genes Expression Alteration in Klebsiella pneumoniae. Microb Drug Resist. 2021 Feb. DOI: 10.1089/mdr.2019.0366
34. Khodaparast S, Ghanbari F, Zamani H. Evaluation of the effect of ibuprofen in combination with ciprofloxacin on the virulence-associated traits, and efflux pump genes of Pseudomonas aeruginosa. World J Microbiol Biotechnol. 2022. DOI: 10.1007/s11274-022-03316-2
35. Abdel-Karim SA-AM, El-Ganiny AMA, El-Sayed MA, Abbas HAA. Promising FDA-approved drugs with efflux pump inhibitory activities against clinical isolates of Staphylococcus aureus. PLoS ONE. 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0272417
36. Ruth M.M, Pennings LJ, Koeken VACM, Schildkraut JA, Hashemi A, Wertheim HFL. et al. Thioridazine Is an Efflux Pump Inhibitor in Mycobacterium avium Complex but of Limited Clinical Relevance. Antimicrob Agents Chemother. 2020. DOI: 10.1128/AAC.00181-20
37. Laudadio E, Cedraro N, Mangiaterra G, Citterio B, Mobbili G, Minnelli C. et al. Natural Alkaloid Berberine Activity against Pseudomonas aeruginosa MexXY-Mediated Aminoglycoside Resistance: In Silico and in Vitro Studies. J. Nat. Prod. 2019. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b00317
38. Muniz DF, Dos Santos Barbosa CR, de Menezes IRA, de Sousa EO, Pereira RLS, Junior JTC. et al. In vitro and in silico inhibitory effects of synthetic and natural eugenol derivatives against the NorA efflux pump in Staphylococcus Aureus. Food Chem. 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127776

Article history:

Received: 12.07.2023

Revision requested: 16.07.2023

Revision received: 25.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

EFFLUX PUMPS AS A PHARMACOLOGICAL TARGET TO COMBAT ANTIBIOTIC RESISTANCE

*Khaitovych M. V.**National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine**nik3061@gmail.com*

Background. Antibiotic resistance is the resistance of bacteria to antimicrobial drugs to which they were previously sensitive. A particular danger is the spread of multidrug-resistant healthcare-associated infections of «ESKAPE» group. Among the mechanisms of antibiotic resistance of these bacteria, the activation of efflux pumps attracts special attention.

Aim: to review the current data on the possibility of using efflux pumps as targets for pharmacological action to overcome antibiotic resistance.

Materials and methods. Analysis of the data presented in PubMed by keywords «antimicrobial resistance», «efflux pumps», «efflux pump inhibitors».

Results. Multidrug efflux pumps are transmembrane transporter proteins that are located in the bacterial cell membrane and periplasm, they are naturally expressed, removing most of the clinically relevant antibiotic from the internal environment of the cell to the external environment, reducing its intracellular concentration. It is promising to combine certain antibiotics with efflux pump inhibitors, this allows to reduce the therapeutic dose of antibiotics and prevent the formation of bacterial biofilms. Data on the study of the effectiveness of well-known drugs sertraline, trimethoprim, thioridazine, diclofenac sodium, ibuprofen, nitroglycerin, metformin, and verapamil as efflux pump inhibitors are presented. The use of compounds obtained from plants (for example, berberine, artesunate and curcumin inhibit the activity of the efflux pump of gram-negative bacilli *E. coli* and *P. aeruginosa*), vegetables (in particular, *Momordica balsamina*), seeds of thistle, pepper, cumin, essential oils, etc. is promising.

Conclusion. Thus, inhibition of efflux pumps may be a potential way to improve antibiotic activity. The advantage of efflux pumps inhibitors is the difficulty of developing resistance against them in bacteria. It is advisable to conduct *in vivo* studies to confirm their activity and clinical effectiveness.

Key words: antimicrobial resistance, efflux pumps, inhibitors.

ФІКСАЦІЇ ТА ДОКУМЕНТУВАННЯ ТІЛЕСНИХ УШКОДЖЕНЬ У ПАЦІЄНТІВ В ЗАКЛАДАХ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я В УМОВАХ ЗБРОЙНОГО КОНФЛІКТУ

Бабкіна О.П. <https://orcid.org/0000-0001-8120-6526>

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

²Київське міське клінічне бюро судово-медичної експертизи, Київ, Україна

hpbsme@gmail.com

Актуальність. Усі види насильства щодо цивільного населення під час збройного конфлікту є не лише кримінальним злочином, а й порушенням міжнародного гуманітарного права та прав людини. Для вирішення цього питання в умовах збройного конфлікту необхідна всебічна координація міжнародних та національних інституцій та міжгалузевого підходу з надання правової та медичної допомоги, соціально-психологічної підтримки постраждалим від насильства особам. На законодавчому рівні в Україні розроблені нормативні документи щодо запобігання та протидії насильству, захисту і дотримання прав людини.

Ціль: аналіз і узагальнення рекомендацій щодо дій медичних працівників при документуванні та фіксації тілесних ушкоджень у випадках заподіяння насильства (фізичного, сексуального, психологічного) та надання медичної та психологічної допомоги постраждалим особам з дотриманням прав пацієнтів та забезпеченням їх безпеки.

Матеріали та методи. Огляд нормативно-правових документів та науково-методичних публікацій в міжнародних електронних наукометричних базах даних PubMed, Embase і Scopus за ключовими словами.

Результати. В Україні відмічається всебічна взаємодія між правоохоронними органами, медичними установами, судовими експертами та іншими службами для надання своєчасної повноцінної допомоги постраждалим особам при виявленні фактів насильства; розроблена та постійно вдосконалюється система заходів щодо запобігання, протидії та профілактики насильства. Досить важливим є залучення медичних працівників для проведення своєчасного фіксування та документування злочинів з дотриманням прав та забезпеченням безпеки постраждалих. Постраждала від фізичного, психічного та сексуального насильства в умовах збройного конфлікту особа має право на отримання кваліфікованої безоплатної медичної допомоги. Медична допомога особам, які постраждали від насильства (фізичного, сексуального, психологічного, тощо), надається у закладах охорони здоров'я за потреби на всіх рівнях надання медичної допомоги як амбулаторно, так і стаціонарно згідно з Протоколами надання медичної допомоги, тобто відповідно до галузевих стандартів у сфері охорони здоров'я. Медичні працівники під час звернення по медичну допомогу постраждалих осіб або їх законних представників повинні зафіксувати їх скарги (звернення), зібрати анамнез, провести медичний огляд з фіксацією та документуванням тілесних ушкоджень, оцінкою стану постраждалої особи та в разі потреби призначити додаткове інструментально-лабораторне обстеження й заходи щодо попередження наслідків насильства. При цьому медичним працівникам важливо дотримуватися алгоритму дій для медичних працівників у випадках фіксації та документування тілесних ушкоджень.

Висновок. В Україні, як і в усьому світі, широко застосовуються заходи по запобіганню та протидії насильству, пов'язаного зі збройними конфліктами, постійно розробляються та удосконалюються рекомендації з приводу його подолання із залученням працівників правоохо-

ронних органів, соціальних служб, медичних установ, громадських і міжнародних організацій, що демонструє впровадження європейських стандартів. Метою надання постраждалим особі медичної допомоги є подолання негативних наслідків і впливів травматичного насильства на фізичне та психологічне здоров'я постраждалих осіб. Своєчасна фіксація та документування тілесних ушкоджень у постраждалих осіб медичними працівниками, діагностика наслідків ушкоджень допоможуть зібрати докази злочину/насильства і, відповідно, допоможе при розслідуванні кримінальних злочинів.

Ключові слова: Україна, збройний конфлікт, медична допомога, пацієнт, насильство, тілесні ушкодження, фіксація

Актуальність. На сьогодні, в Україні, в умовах міжнародного збройного конфлікту через постійне зростання випадків фізичного, психологічного та сексуального насильства проти цивільного населення, спостерігається тенденція щодо орієнтування на європейські стандарти з багатьох питань. Усі види насильства щодо цивільного населення під час збройного конфлікту є не лише кримінальним злочином, а й порушенням міжнародного гуманітарного права та прав людини. Для вирішення цього питання в умовах збройного конфлікту необхідна всебічна координація міжнародних та національних інституцій та міжгалузевого підходу з надання правової та медичної допомоги, соціально-психологічної підтримки постраждалим від насильства особам. На законодавчому рівні в Україні розроблені нормативні документи щодо запобігання та протидії насильству, захисту і дотримання прав людини [1–3]. Законодавством України передбачено права, обов'язки, пільги для громадян. Відповідно до статті 3 Конституції України, людина, її життя і здоров'я, честь і гідність, недоторканність і безпека визнаються в Україні найвищою соціальною цінністю, права і свободи людини та їх гарантії визначають зміст і спрямованість діяльності держави. Забезпечення прав і свобод людини є головним обов'язком держави. В ст. 49 Конституції України зазначено, що одним з найважливіших завдань нашої держави є надання кваліфікованої медичної допомоги населенню: «Кожен має право на охорону здоров'я, медичну допомогу та медичне страхування», що також підкреслено в низці статей Закону України «Основи законодавства України про охорону здоров'я» (ст.ст. 5,6,7,8,9,33,

тощо) [4–8]. 20.06.2022 Законом № 2319-IX ратифіковано Конвенцію Ради Європи, згідно з якою забороняються всі види дискримінації жінок, захищаються їх права на вільне від насильства життя і підкреслюється необхідність дотримання рівноправності між жінками та чоловіками як однієї з умов для запобігання та припинення насильства щодо жінок [9,10].

В Україні відмічається всебічна взаємодія між правоохоронними органами, медичними установами, судовими експертами та іншими службами для надання своєчасної повноцінної допомоги постраждалим особам при виявленні фактів насильства; розроблена та постійно вдосконалюється система заходів щодо запобігання, протидії та профілактики насильства [11–13]. Досить важливим є залучення медичних працівників для проведення своєчасного фіксування та документування злочинів з дотриманням прав та забезпеченням безпеки постраждалих.

Ціль: аналіз і узагальнення рекомендацій щодо дій медичних працівників при документуванні та фіксації тілесних ушкоджень у випадках заподіяння насильства (фізичного, сексуального, психологічного) та надання медичної та психологічної допомоги постраждалим особам з дотриманням прав пацієнтів та забезпеченням їх безпеки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Огляд нормативно-правових документів та науково-методичних публікацій в міжнародних електронних наукометричних базах даних PubMed, Embase і Scopus за ключовими словами.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Постраждала від фізичного, психічного та сексуального насильства в умовах збройного конфлікту особа має право на отримання кваліфікованої безоплатної медичної допомоги. Медична допомога особам, які постраждали від насильства (фізичного, сексуального, психологічного, тощо), надається у закладах охорони здоров'я за потреби на всіх рівнях надання медичної допомоги як амбулаторно, так і стаціонарно. Метою надання постраждалій особі медичної допомоги є подолання негативних наслідків і впливів травматичного насильства на фізичне та психологічне здоров'я постраждалих осіб.

Медичним працівникам необхідно обов'язково звертати увагу на те, що постраждала особа має право на вільний вибір закладу охорони здоров'я, лікаря, методів діагностики та лікування відповідно до рекомендацій лікаря. При цьому важливу роль має професійна тематична підготовка медичних працівників з питань проведення фіксації тілесних ушкоджень та документування результатів медичного обстеження постраждалих осіб, надання медичної допомоги постраждалим, в тому числі і з ознаками катувань. На сьогодні, через збройний конфлікт, експертизи (судово-медичні, судово-психологічні, тощо) можуть проводитись не одразу, а через деякий час після загоєння ушкоджень або у випадках, коли первинна картина ушкоджень змінена оперативним втручанням. Експертиза проводиться за даними медичної документації, тому кожному лікарю необхідно описувати всі наявні у постраждалої особи тілесні ушкодження при заповненні медичної карти амбулаторного або стаціонарного хворого. Правильний опис лікарем тілесних ушкоджень згідно з загальноприйнятою схемою дозволить експерту відповісти на всі питання правоохоронних органів, визначити локалізацію, механізм, давність виникнення ушкодження, взаєморозташування потерпілої особи та злочинця, тощо. Керівник закладу охорони здоров'я або визначена ним особа з числа його заступників повинні орга-

нізувати вищезазначену підготовку медичних працівників щодо фіксації та документування тілесних ушкоджень.

Медичний працівник повинен визначити вид медичної допомоги (первинна медична допомога, вторинна (спеціалізована), третинна (високоспеціалізована), екстрена медична допомога, паліативна медична допомога, стоматологічна медична допомога, медична реабілітація, та за потреби направити таку особу до відповідного закладу охорони здоров'я. Медична допомога особам, які постраждали (або ймовірно постраждали) від насильства (фізичного, сексуального, психологічного), надається згідно з Протоколами надання медичної допомоги, тобто відповідно до галузевих стандартів у сфері охорони здоров'я. Медичні працівники під час звернення по медичну допомогу постраждалих осіб або їх законних представників повинні зафіксувати їх скарги (звернення), зібрати анамнез, провести медичний огляд з фіксацією та документуванням тілесних ушкоджень, оцінкою стану постраждалої особи та в разі потреби призначити додаткове інструментально-лабораторне обстеження й заходи щодо попередження наслідків насильства.

Для фахівців всіх галузей при наданні медичної, психологічної, правової допомоги важливо пам'ятати, що право на звернення до державних органів, закладів охорони здоров'я, правозахисних організацій, психологів по допомогу постраждалих від насильства (фізичного, сексуального, психологічного, тощо) – це особисте рішення персонально кожної постраждалої особи. Питання про побої, муки та катування входять в компетенцію органів досудового слідства/суду, і не є компетенцією медичних працівників та судово-медичної експертизи. Однак, всім постраждалим особам завжди необхідно роз'яснити, що перелічені вище кроки допоможуть зібрати докази злочину на той випадок, якщо постраждала особа змінить думку й наважиться повідомити про нього пізніше. Пропонуємо наступний **алгоритм дій для медичних працівників у випадках фіксації та документування тілесних ушкоджень**.

Опитування постраждалих

1. Проводити опитування, огляд, обстеження з дотриманням морально-етичних норм, враховуючи можливість негативних ситуативних чинників, які можуть нагадувати постраждалій особі про обставини вчинених проти неї насильницьких дій/травми.
2. Виявляти чемність по відношенню до постраждалої особи, коректно формулювати питання, намагатися створити довірливу обстановку з метою збору повного анамнезу.
3. Пояснити постраждалій особі, що вся надана нею інформація конфіденційна і не буде розголошена іншим особам (Обробка персональних даних про постраждалу особу здійснюється працівниками закладу охорони здоров'я з дотриманням вимог Закону України «Про захист персональних даних»).
4. Бажано, щоб лікар був однієї статі з постраждалою особою для створення комфортних умов, або, якщо лікар іншої статі, отримати дозвіл у неї.
5. У всіх випадках в обов'язковому порядку встановлюється особа обстежуваної, як правило, шляхом перевірки паспорта або іншого документа з фотографією, що його заміняє. При відсутності вказаних документів особа може бути засвідчена представником правоохоронних органів, для чого робиться відповідний запис у медичній документації. У виключних випадках, можливе проведення огляду обстежуваної без пред'явлення паспорта або документів, що їх заміняють, після обов'язкового попереднього фотографування обстежуваної особи.
6. Отримати добровільну та поінформовану згоду на опитування, огляд та проведення будь-якого обстеження чи іншої процедури, лікування, профілактики.
7. Отримати добровільну та поінформовану згоду на проведення фотографування ушкоджень постраждалої особи під час огляду для документального підтвердження фактів.
8. Отримати добровільну та поінформовану згоду на проведення відеозйомки під час збору анамнезу і огляду постраждалої особи з метою можливості подальшого використання даних при проведенні слідчих дій для запобігання психологічної травмизації.
9. Фіксувати в повному обсязі всі скарги постраждалої особи; у випадках ймовірного сексуального насильства звернути увагу на наявність додаткових симптомів (кровотеча, виділення з піхви або заднього проходу, локалізація болю, тощо).

Збір анамнезу

Під час збору анамнезу необхідно стежити за тим, як почувається постраждала особа. Пояснити, що вона може взяти паузу, має право не відповідати на запитання, які викликають негативні емоції. Не потрібно випитувати насильно будь-яку інформацію про обставини справи. Розмовляти з постраждалою особою спокійним тоном голосу, навіть у разі, якщо вона нічого не відповідає.

Анамнез захворювання (обставини випадку) з детальним описом:

- місця (конкретна адреса або позначка на карті);
- дати та часу вчинення (якщо відбувалося протягом тривалого періоду, зазначити всі дати та час);
- детальної інформації про особу/осіб, які вчинили насильство (кількість, якщо відомо – ПІБ, якщо були в уніформі, то якій, чи мали при собі зброю, тощо);
- які дії вчиняли (погрози, залякування, побиття, обставини сексуального насильства, тощо) з конкретизацією особи/осіб (хто саме і які дії вчиняв: якими предметами наносили ушкодження, по яких ділянках, скільки разів);
- чи втрачала особа свідомість (якщо так то, на який приблизно термін: секунди, хвилини, години); чи були блювота, кровотечі, тощо;
- чи зверталася за медичною допомогою, до якого медичного закладу, яка саме медична допомога надавалася, чи має оригінали/копії медичної документації;
- чи зверталася за психологічною допомогою, до якого закладу, яка саме допомога надавалася, оригінали/копії документації;
- чи зверталася постраждала особа з даної події до співробітників поліції чи інших установ з приводу фіксації даного факту;

- чи проводилася зміна одягу/взуття або знаходиться в одязі/взутті, які були в момент заподіяння ушкоджень;
- якщо особа надає дані про дії сексуального характеру додатково до вищевказаного;
- який спосіб (природний/неприродний); чи застосовувалися протизаплідні засоби, чи був закінчений статевий акт, чи потрапляла сперма на тіло, у піхву, на одяг; чи проводилися після сексуального насильства гігієнічні процедури (прийняття душу, чистка зубів, тощо), чи проводилася зміна одягу або знаходиться в одязі, які були в момент сексуального насильства;
- спеціальний анамнез, в якому бажано вказати: а) час настання, характер і тривалість менструації, тривалість менструального циклу, дата першого дня останньої менструації; б) початок статевого життя, у тому числі дата останніх статевих зносин; в) вагітність, кількість, кінець кожної з них; г) пологи, кількість, перебіг, кінець кожних з них, післяпологові захворювання; д) перенесені операції і захворювання, у тому числі венеричні, туберкульоз тощо.

Огляд постраждалих, фіксація та документування тілесних ушкоджень

Огляд постраждалої особи проводити в комфортних умовах, при достатньому освітленні і комфортній температурі повітря в приміщенні. Звертати увагу, якщо надійде прохання від постраждалої особи, проводити огляд при зачинених/відчинених дверях (створення відчуття безпеки).

1. При наявності пошкоджень або інших змін одягу/взуття постраждалої зазначити це, і рекомендувати постраждалій особі зберегти одяг, скласти в чистий пакет та передати правоохоронним органам для призначення і проведення судово-медичної/криміналістичної експертизи.
2. Проводити відеозйомку під час збору анамнезу і огляду з метою можливості подальшого використання даних відеозйомки при проведенні слідчих дій запобігання психологічної травматизації постраждалих.
3. Огляд проводити за загальноприйнятою схемою, починаючи з дослідження загального соматичного стану.

4. Проводити ретельний огляд всіх частин тіла на предмет виявлення тілесних ушкоджень, які можуть бути наслідком насильства.

!!!Тілесні ушкодження (з медичної точки зору) – це порушення анатомічної цілості тканин, органів та/або їх функцій, які виникають внаслідок дії одного чи декількох зовнішніх факторів (фізичних, хімічних, біологічних, термічних, тощо)

5. Проводити обов'язкове фотографування тілесних ушкоджень обстежуваних під час огляду для документального підтвердження фактів.
6. При наявності тілесних ушкоджень, визначити їх характер, вид, локалізацію, кількість, морфологічні особливості; зафіксувати в медичній документації відповідно до схеми опису (загального алгоритму опису тілесних ушкоджень, що наведений нижче) всі наявні ушкодження (синці, садна, подрипини, крововиливи, рани, рубці, тощо); при необхідності провести дослідження в ультрафіолетових променях, тощо.

Загальний алгоритм опису тілесних ушкоджень

- визначити вид ушкодження (синець, садно, подрипина, крововилив, рана, перелом, опік, електромітка, рубець, тощо);
- !!! зверніть увагу: не можна описувати ушкодження як побиття, забої, сліди зубів собаки, тощо. Необхідно визначити вид ушкодження!!!*
- визначити точну локалізацію ушкодження стосовно двох постійних анатомічних орієнтирів (можливо зазначати відповідно до умовного часового циферблату);
 - визначити форму, яку порівнюють з формою геометричних фігур (лінійна, дугоподібна, овальна, неправильно овальна, тощо);
 - визначити розмір ушкодження (довжина та ширина, які визначаються за двома перпендикулярними лініями (якщо це рана, вимірюють при зіянні та зведенні країв);
- !!! зверніть увагу на те, що розмір обов'язково вимірюється лінійкою*
- описати краї ушкодження (якщо це садно/синець – чіткі/нечіткі, якщо рана- рівні/нерівні, саднені/несаднені (здерті/нездерті), синцеві/несинцеві, тощо);

- якщо ушкодження це садно – додатково вказати наявність кірки, її колір (червоний, коричневий, червоно-коричневий), розташування по відношенню до навколишніх тканин (нижче, на рівні, вище);
- якщо ушкодження це синець – додатково колір, розташування по відношенню до навколишніх тканин (на рівні, вище);
- якщо рана – визначити форму кожного з кінців (закруглені, гострі, П-подібні, тощо); відмітити наявність/відсутність тканинних перетинок та волосяних містків; описати ранові поверхні (нерівні, шерхкі, скошені); описати глибину проникнення, наявність ранового каналу, його напрямок; особливості дна рани;
- вказати орієнтацію довжини ушкодження по відношенню до анатомічної вісі ділянки (визначають, виходячи з розташування вісі нормального анатомічного положення тіла людини, коли пацієнт стоїть обличчям до лікаря, руки вздовж тіла, долоні спрямовані теж в бік лікаря, ноги приведені одна до одної);
- охарактеризувати стан прилеглих до ушкодження тканин (наявність забруднення, крові, сторонніх речовин, включень, припухлості, тощо).

!!! Якщо спостерігається декілька ушкоджень різного характеру, кожне ушкодження описується окремо за даною схемою. Якщо ушкодження подібного характеру, описується їх кількість, розмір і локалізація і додатково зазначається, що ушкодження мають однакові морфологічні властивості. Переломи та ушкодження внутрішніх органів визначаються та підтверджуються тільки додатковими дослідженнями (рентгенографія, комп'ютерна томографія, ультразвукова діагностика, тощо)!!!

Фіксація тілесних ушкоджень при сексуальному насильстві (ймовірному СН) (додатково до вищезазначеного)

1. Звернути додатково особливу увагу на наявність ушкоджень, їх характер, вид, локалізацію, кількість, морфологічні особливості в ротовій порожнині, шиї, внутрішній поверхні верхніх і нижніх кінцівок, тощо. На-

явність, ушкоджень, їх характер, локалізацію, кількість, морфологічні особливості на ділянці статевих органів і анального отвору;

2. Провести дослідження статевих органів на гінекологічному кріслі:
 - описати стан зовнішніх статевих органів, правильність їх будови, наявність вад розвитку, особливості форми і розміру статевих губ і клітора, стан і колір слизової оболонки присінка піхви, стан зовнішнього отвору сечовивідного каналу, глибину і ширину входу у піхву; наявність або відсутність запального процесу та інших хворобливих станів, характеру виділень із статевих органів; наявність, характер і розміщення ушкоджень;
 - описати стан дівочої пліви: форма (кільцеподібна, напівмісячна, тощо), висота (ширина), товщина, консистенція (м'ясиста, ущільнена), характер вільного краю (тонкий, товстий, гладкий, клаптиковий тощо), розмір (діаметр) і форма отвору (кругла, овальна щілиноподібна), розтягненість пліви, при наявності кількох отворів - їх кількість і характер перетинок, наявність та точна локалізація природних виїмок (їх характер, колір, щільність країв, глибина, місце, симетричність розміщення, їх відношення до зморшок піхви);
 - якщо в ході огляду виявлена цілість дівочої пліви, то робиться позначка, чи не має вона будови, що припускає скоєння статевого акту без її порушення (розтягнутість, особливості будови – низька, у вигляді кайми, валика тощо), встановлюється розмір (діаметр) отвору, характер країв, а також зазначається наявність або відсутність кільця скорочення;
 - випадках виявлення ушкоджень дівочої пліви описати їх кількість, локалізацію, форму і характер країв розривів (кровоточиві, такі, що гранулюються, рубцюються, вже зарубцювались), глибину розривів: досягають половини висоти (ширини) пліви, її основи, колір їх поверхонь, ущільненість країв розриву, наявність крововиливів у товщу пліви. Локалізація розривів та інших ушкоджень описується за колом входу в піхву, яке поділене на 12 рівних секторів згідно з

циферблатом годинника. При свіжих ушкодженнях дівочої пліви дослідження матки і придатків через піхву допускається лише після загоєння пліви, не раніше ніж через 10–12 днів після скоєння статевого акту;

3. Провести забір матеріалу, умови зберігання і передачі для подальшого дослідження: вилучення вмісту піхви стерильним марлевым тампоном із ділянки задніх і бічних склепінь для визначення можливої наявності сперматозоїдів і статевої приналежності сперми (проводиться в строки не більше як 7 днів з часу скоєння статевого акту). Зробити мазки на предметні стекла даним марлевым тампоном. Висушити за кімнатної температури предметні стекла, марлевий тампон, а також зразок чистої марлі від того самого клаптика; упаковувати належним чином в паперовий пакет і передати у встановленому порядку співробітнику правоохоронних органів.
4. У разі необхідності провести дослідження анального отвору (зазначити форму: у вигляді невеликого заглиблення, широкої або втягнутої коронки; вираженість радіальних зморшок шкіри навколо анального отвору, колір слизової оболонки прямої кишки, наявність зяяння, тріщин, саден, ран). Провести вилучення вмісту з прямої кишки (якщо обстежується після зносин через анальний отвір не мала акту дефекації) стерильним марлевым тампоном з глибини 3–5 сантиметрів шляхом обтирання її слизової оболонки; вилученим тампоном зробити мазки на предметні стекла – для встановлення наявності сперматозоїдів. Висушити за кімнатної температури предметні стекла, марлевий тампон, а також зразок чистої марлі від того самого клаптика; упаковувати належним чином в паперовий пакет і передати у встановленому порядку співробітнику правоохоронних органів.
5. Призначити обстеження на наявність венеричного захворювання та інфекції, які передаються статевим шляхом (ВІЛ сифіліс, гепатит В, хламідіоз, гонорея, трихомоніаз, тощо). Рекомендувати проведення постконтактної профілактики для інфекцій, що

передаються статевим шляхом, одночасно з екстреною контрацепцією (таблетки невідкладної контрацепції) та постконтактною профілактикою ВІЛ/СНІДу (препарати та схеми лікування обираються згідно з локальними протоколами та мають відповідати національним рекомендаціям; профілактику треба розпочати протягом перших 24 годин після ризикованого випадку, у крайньому разі – не пізніше 72 годин).

Важливо!!! Жінки у випадку сексуального насильства потребують емоційної підтримки і чіткої інформації для розуміння доступних варіантів дій щодо застосування невідкладної контрацепції, а у випадку вагітності - прийняття усвідомленого рішення щодо її переривання або збереження!!! Слід пам'ятати, що на момент сексуального насильства жінка може бути вже вагітною. Перевірте можливість вже існуючої вагітності у жінок репродуктивного віку за допомогою тесту на вагітність або додаткових обстежень.

Оформлення медичної документації

1. Після проведення огляду всі відомості щодо постраждалої/ймовірно постраждалої особи вносяться до медичної документації, яку заповнюють належним чином :
 - з детальним зазначенням скарг, анамнезу, соматичного статусу, тілесних ушкоджень відповідно до загальноприйнятої схеми опису;
 - якщо виникла необхідність направити постраждалу особу для проведення додаткових обстежень (рентгенологічне, ультразвукове дослідження, комп'ютерна томографія, тощо, консультації спеціалістів – невропатолога, кардіолога, травматолога, венеролога, проктолога, тощо), обов'язково це зазначити та в подальшому додати дані про результати медичного обстеження;
 - виставити діагноз, у разі необхідності призначити лікування та профілактику.

!!! Діагноз «Забій м'яких тканин голови, грудної клітки, живота, тощо» не буде враховуватися судово-медичним експертом при оцінці ступеня тяжкості, за умови, що він встановлений на основі суб'єктивних факторів і не підтверджується об'єктивними

відомостями (якщо в медичній документації відсутні дані про тілесні ушкодження та їх морфологічні характеристики (дані див. вище) [13].

Клінічний діагноз постраждалої особи може також бути зашифрований відповідно до чинної МКХ-10 або ICPC (T74.20, Сексуальна жорстокість, T74.10 Фізична жорстокість, T74.30 Психологічна жорстокість, тощо).

Пам'ятати, що питання про побої, муки та катування входять в компетенцію органів досудового слідства / суду, і не є компетенцією медичних працівників та судово-медичної експертизи.

2. Всі дані щодо оформлення медичної документації, форми та інструкції з її оформлення, перелічені в Наказі «Про затвердження форм первинної облікової документації та Інструкцій щодо їх заповнення, що використовуються у закладах охорони здоров'я незалежно від форми власності та підпорядкування» Міністерства охорони здоров'я України від 14 лютого 2012 року № 110 (форма № 025/о «Медична карта амбулаторного хворого № _», форма № 003/о «Медична карта стаціонарного хворого № _», тощо). Дані також вносяться до «Журналу обліку фактів звернення та доставлення до закладу охорони здоров'я осіб у зв'язку з заподіянням їм тілесних ушкоджень кримінального характеру та інформування про такі випадки органів та підрозділів поліції» за формою згідно з додатком до наказу Міністерства внутрішніх справ України, Міністерства охорони здоров'я України від 06 липня 2016 року № 612/679 «Про порядок обліку фактів звернення та доставлення до закладів охорони здоров'я осіб у зв'язку із заподіянням їм тілесних ушкоджень кримінального характеру та інформування про такі випадки органів і підрозділів поліції», зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 28 липня 2016 року за № 1051/29181 (при зверненні та доставленні до закладів охорони здоров'я осіб у зв'язку із заподіянням їм тілесних ушкоджень різного ступеня тяжкості (вогнепальні, колоті, різані, рубані рани, тощо). У випадках домашнього насильства або сексуального насильства данні також вносять-

ся до «Журналу реєстрації фактів виявлення (звернення) про вчинення домашнього насильства та насильства за ознакою статі», який ведеться у закладі охорони здоров'я за формою згідно з додатком 4 до Порядку взаємодії суб'єктів, що здійснюють заходи у сфері запобігання та протидії домашньому насильству і насильству за ознакою статі, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 22 серпня 2018 року № 658.

3. Після надання постраждалій особі медичної допомоги, у разі необхідності, її необхідно скерувати до фахівця в сфері психічного здоров'я для проведення необхідних психотерапевтичних дій або медикаментозного лікування. Фахівцям з психічного здоров'я необхідно зафіксувати результати психологічного огляду постраждалої особи в медичній документації. Надаються рекомендації щодо отримання першої психологічної допомоги (фахівцями сфери психічного здоров'я, а також всіма іншими особами, які залучені до надання домедичної, медичної допомоги чи ліквідації наслідків військових дій).
4. Надання інформації щодо необхідності звернення з паспортом до територіального відділу поліції, районної прокуратури для отримання відповідного постанови/направлення для проходження судово-медичної експертизи з метою своєчасного документування та фіксації фактів заподіяння тілесних ушкоджень.
5. Проінформувати завідувача відділенням/ або відповідальну особу/ керівника закладу охорони здоров'я про виявлені факти тілесних ушкоджень.

Заклад охорони здоров'я (керівник закладу охорони здоров'я) не пізніше однієї доби зобов'язаний інформувати про виявлені факти заподіяння тілесних ушкоджень та випадки сексуального насильства правоохоронні органи (уповноважені підрозділи органів Національної поліції України) з дотриманням правового режиму інформації з обмеженим доступом за допомогою телефонного зв'язку, електронної пошти з подальшим письмовим підтвердженням.

7. Медичні працівники інформують постраждалу особу та/або її законного представника про права на безоплатне отримання медичної, соціальної та психологічної допомоги, інших соціальних послуг, безоплатну правову допомогу як в паперовому, так і в електронному вигляді (пам'ятка, алгоритм дій, тощо).

ВИСНОВКИ

В Україні, як і в усьому світі, широко застосовуються заходи по запобіганню та протидії насильству, пов'язаного зі збройними конфліктами, постійно розробляються та удосконалюються рекомендації з приводу його подолання із залученням працівників правоохоронних органів, соціальних служб, медичних установ, громадських і міжнародних організацій, що демонструє впровадження європейських стандартів. В низці нормативно-законодавчих документів України передбачено, що у разі порушення законних прав і інтересів громадян/пацієнтів у випадках фізичного, сексуального, психологічного насильства відповідні державні, громадські або інші органи, підприємства, установи та організації, їх посадові особи і громадяни зобов'язані вжити заходів щодо поновлення порушених прав, захисту законних інтересів та відшкодування заподіяної шкоди, в тому числі із застосуванням міжнародних рекомендацій та норм міжнародного права. Метою надання постраждалій особі медичної допомоги є подолання негативних наслідків і впливів травматичного насильства на фізичне та психологічне здоров'я постраждалих осіб. Своєчасна фіксація та документування тілесних ушкоджень у постраждалих осіб медичними працівниками, діагностика наслідків ушкоджень допоможуть зібрати докази злочину/насильства і, відповідно, допоможе при розслідуванні кримінальних злочинів.

Перспективи подальших досліджень. В зв'язку зі збільшенням випадків фізичного, сексуального та психологічного насильства, особливо в теперішній час в умовах збройного конфлікту в Україні, питання запобігання та протидії насильству, своєчасної фіксації та

документування тілесних ушкоджень та наслідків насильства, потребує особливої уваги і подальшого вирішення.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Міжнародний протокол з документування та розслідування сексуального насильства в конфлікті. Основні стандарти належної практики щодо документування сексуального насильства як злочину згідно міжнародного права. Друге видання, 2017. Available on: https://womenua.today/UWC-library/unwomen/37-International_Protocol_2017_2nd_Edition_UKR.pdf
2. Конвенція проти катувань та інших жорстоких, нелюдських або таких, що принижують гідність, видів поводження і покарання {Конвенцію ратифіковано із застереженнями Указом Президії ВР N 3484-XI (3484-11) від 26.01.87} Available on: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/995_085#Text
3. Особливості роботи з пацієнтами, які пережили полон та тортури, сексуальне насильство пов'язане з конфліктом. Рекомендації для фахівців медичної сфери/ К. Возніцина, Т. Сіренко. Київ, 2023. 48с. Available on: <https://drive.google.com/file/d/1Z3bvEsmOomg0YbWFTeQuj4O04cvlV5-d/view?pli=1>
4. Конституція України (Відомості Верховної Ради України (ВВР), 1996, № 30, ст. 141)
8. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/254%D0%BA/96-%D0%B2%D1%80#-Text>
5. Кримінальний Кодекс України. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2341-14#Text>
Кримінальний процесуальний Кодекс України. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/4651-17#Text>

6. Кодекс України про адміністративні правопорушення. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/80731-10>
7. Закон України «Основи законодавства України про охорону здоров'я» {Вводиться в дію Постановою ВР № 2802-ХІІ від 19.11.92, ВВР, 1993, № 4, ст.20} із змінами. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2801-12#Text>
8. Закон України «Про ратифікацію Конвенції Ради Європи про запобігання насильству стосовно жінок і домашньому насильству та боротьбу із цими явищами», документ 2319-ІХ, чинний, поточна редакція – прийняття 20.06.2022. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2319-20#Text>
9. Конвенція Ради Європи про запобігання насильству стосовно жінок і домашньому насильству та боротьбу із цими явищами (Стамбульська конвенція) Офіційний переклад. Available on: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_001-11#Text
10. Постанова Кабінету міністрів України «Про затвердження Порядку взаємодії суб'єктів, що здійснюють заходи у сфері запобігання та протидії домашньому насильству і насильству за ознакою статі від 22 серпня 2018 р. № 658{Із змінами, внесеними згідно з Постановою КМ № 129 від 16.02.2022}. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/658-2018-%D0%BF#Text>
11. Бабкіна О. П., Ткачов А. С., Данильченко С. І. Правові та судово-медичні аспекти домашнього насильства в Україні. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020. № 4 (26), т. 5. С. 336–342. Available on: <https://jmbs.com.ua/pdf/5/4/jmbs0-2020-5-4-336.pdf>
12. Наказ МОЗ України № 6 «Про розвиток та вдосконалення судово-медичної служби України» від 17.01.1995 р. [Ukrainian]. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0248-95#Text>

Article history:

Received: 10.07.2023

Revision requested: 26.07.2023

Revision received: 12.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023