

Аналіз складу тіла щурів з експериментальним цукровим діабетом 1 типу і на тлі корекції

Ю. М. Колесник^{А,Е,Ф}, М. І. Ісаченко^{В,С,Д}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; Д – написання статті; Е – редагування статті; Ф – остаточне затвердження статті

Ключові слова:

біоімпедансний аналіз складу тіла, водні об'єми організму, жирова та знежирена маса тіла, цукровий діабет 1 типу, корекція, L-аргінін, N-ацетил-L-цистеїн, щури.

Keywords:

bioimpedance analysis of body composition, body fluid volumes, fat and fat-free body mass, diabetes mellitus type 1, correction, L-arginine, N-acetyl-L-cysteine, rats.

Надійшла до редакції / Received: 12.09.2024

Після доопрацювання / Revised: 20.09.2024

Схвалено до друку / Accepted: 14.10.2024

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

***E-mail:** fedotova@zsmu.pp.ua

Мета роботи – за допомогою біоімпедансного аналізу визначити склад тіла щурів з експериментальним цукровим діабетом 1 типу (ЦД1) і його корекцією амінокислотами.

Матеріали і методи. Цукровий діабет змодельовано введенням стрептозоточину. На 6 тижні щурів поділили на 3 підгрупи: ЦД1-1 – щури без корекції; ЦД1-2 – корекція розчином L-аргініну; ЦД1-3 – корекція N-ацетил-L-цистеїном протягом 2 тижнів. Склад тіла визначали аналізатором імпедансу Vet BIS1 з оцінюванням об'єму загальної води в організмі, поза- та внутрішньоклітинної рідини, знежиреної та жирової маси тіла.

Результати. Маса щурів із ЦД1 на 6 тижні була меншою за контроль на 40 % зі зменшенням жирової на 63 % і знежиреної маси тіла на 22 %. Розвиток гіперглікемії на 6 тижні спричиняв загальну дегідратацію (зменшення загальної води на 39 %) зі зниженням абсолютних показників обох водних об'ємів. На 7 і 8 тижнях загальна, жирова і знежирена маси тіла в підгрупах ЦД1-1, ЦД1-2 та ЦД1-3 статистично не відрізнялися. Амінокислоти сприяли достовірному зниженню концентрації глюкози, проте це не вплинуло на загальну дегідратацію зі зниженням обох водних об'ємів.

Висновки. На тлі розвитку стрептозоточин-індукованого цукрового діабету 1 типу у щурів через 6 тижнів виявили статистично значущу втрату маси тіла, передусім жирової маси з порушенням її співвідношення до знежиреної. Стька гіперглікемія вже на 6 тижні експериментального ЦД спричинила загальну дегідратацію через втрату поза- і внутрішньоклітинної рідини з переважанням внутрішньоклітинної дегідратації. Двотижневе корегування цукрового діабету L-аргініном і N-ацетил-L-цистеїном на 8 тижні статистично значущо знизило концентрацію глюкози у підгрупах дослідних тварин, але не вплинуло на зменшення маси тіла, що прогресувало, а також зменшення жирової, знежиреної маси та водних об'ємів.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 247-254

Analysis of the body composition of rats with experimental diabetes mellitus type 1 and its correction

Yu. M. Kolesnyk, M. I. Isachenko

The aim was to determine the body composition of rats with experimental type 1 diabetes mellitus and its correction with amino acids using bioimpedance analysis.

Material and methods. Diabetes mellitus was modeled by the injection of streptozotocin. On the 6th week the rats were divided into 3 subgroups: DM1-1 – without correction, DM1-2 – correction with L-arginine and DM1-3 – correction with N-acetyl-L-cysteine for 2 weeks. Body composition was determined by the Vet BIS1 impedance analyzer with a study of total water volume in the body, extracellular and intracellular fluid, fat and fat-free body mass.

Results. Weight of rats in DM1 group at the 6th week was 40 % less than in control, with a 63 % reduction in fat and 22 % decrease of fat-free body mass. The development of hyperglycemia in week 6 caused general dehydration, with a decrease in absolute values of both fluid volumes. On the 7th and 8th weeks, body weight, fat and fat-free body mass in the subgroups DM1-1, DM1-2, and DM1-3 did not differ statistically. Both amino acids caused a decrease in glucose concentration, but this did not affect existing total dehydration with a decrease of both fluid volumes.

Conclusions. The development of streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rats in 6 weeks resulted in a statistically significant loss of body weight, mostly due to fat mass decrease with a violation of its ratio to fat-free mass. Persistent hyperglycemia already in the 6th week of experimental diabetes mellitus causes general dehydration due to loss of extracellular and intracellular water, with a predominance of intracellular dehydration. Two-week correction of diabetes with L-arginine and N-acetyl-L-cysteine at 8th week significantly reduces glucose concentration in subgroups, but does not affect the progressive reduction of body weight, fat and free-fat mass, and fluid volumes.

Modern medical technology. 2024;16(4):247-254

Біоімпедансний аналіз складу тіла (БІС) – сучасний діагностичний інструментальний метод для об'єктивного оцінювання об'єму м'язової і жирової тканин, кількості рідини в організмі (внутрішньо- та позаклітинної), що дає змогу опосередковано оцінити зміни обмінних процесів [1]. Цей метод ґрунтується на здатності біологічних тканин проводити електричний струм. Так, високогідратовані тканини, як-от м'язова, є провідником електричного струму, а низькогідратована жирова тканина є ізолятором. Отже, імпеданс обернено пропорційний вмісту рідини в тканинах організму. Використання різних частот електричного струму дає змогу отримати інформацію про різні резистивні та реактивні компоненти. На низьких частотах струм проходить через внутрішньоклітинну рідину, а на високих частотах – через позаклітинну [2]. Науковий інтерес до компонентного складу тіла зумовлений тим, що в процесі зміни обміну речовин відбувається трансформація співвідношення активних складових тіла, яка є наслідком названих процесів [3].

У клінічній практиці БІС широко використовують у пацієнтів із метаболічними захворюваннями, й одним із них є цукровий діабет 1 типу (ЦД1). Метод дає змогу оцінити зміни в розподілі рідини в організмі на тлі гіперглікемії, а також простежити вираженість і співвідношення процесів дегідратації / гіпергідратації й катаболізму / анаболізму. Така інформація про стан метаболізму впливатиме на тактику лікування та прогноз пацієнтів [4].

Не менш широко цей метод використовують під час дослідження метаболізму в експерименті на тваринах, оскільки точне визначення складу тіла *in vivo* має вирішальне значення для інтерпретації результатів [5].

Під час експериментальних досліджень метод БІС має чимало переваг, як-от універсальність, мобільність, низька інвазивність і вартість досліджень, висока точність вимірювань [6, 7]. Отже, використання БІС у тварин з експериментальним діабетом дає змогу якнайточніше оцінити метаболічні зміни в організмі [8], що особливо важливо під час експерименту з корекцією.

Дослідження корекції ЦД1 – надзвичайно важливий напрям сучасної медицини, оскільки традиційні методи лікування, зокрема інсулінотерапія, не завжди забезпечують оптимальний контроль рівня глюкози в крові та не запобігають розвитку ускладнень. Експериментальний підхід у пошуку й застосуванні різних біологічно активних сполук відкриває нові перспективи в лікуванні, може забезпечити ефективніші механізми регуляції глюкози, дасть змогу виявити нові терапевтичні мішені та механізми дії. За даними наукової літератури, такими сполуками можуть бути амінокислоти [9].

З погляду терапевтичного потенціалу, однією з перспективних амінокислот є L-аргінін, що відіграє важливу роль в організмі (синтез оксиду азоту, детоксикація аміаку, стимуляція проліферації Т-клітин, натуральних кілерів і макрофагів, регуляція гормонального балансу й енергетичного обміну). У багатьох експериментальних дослідженнях і клінічних спостереженнях доведено формування дефіциту L-аргініну при ЦД1, що пов'язаний із порушенням біосинтезу і підвищенням споживанням. Недостатність L-аргініну призводить до ендотеліальної дисфункції, яку виявляють за зниженням утворення

оксиду азоту, порушенням кровообігу та мікроциркуляції, погіршенням нейротрофічних процесів [10]. При ЦД1 це спричиняє розвиток і швидке прогресування діабетичних ангіо- та нейропатій, тому дослідження патогенетичних механізмів впливу L-аргініну є актуальним напрямом сучасної медицини.

Ще одна проблема ЦД1 – високий рівень оксидативного стресу, який відіграє важливу роль у патогенезі захворювання та його ускладнень. L-цистеїн є потужним антиоксидантом, який може підвищити рівень глутатіону, дефіцит якого визначають при ЦД1. Крім того, N-ацетил-L-цистеїн може покращити чутливість тканин до інсуліну, знизити рівень запалення, покращити функцію ендотелію судин [11]. Усе це може сприяти корекції основних патогенетичних порушень. Отже, беручи до уваги його численні позитивні ефекти та можливість впливу на ключові ланки патогенезу ЦД1, дослідження у цьому напрямі є актуальними.

Доцільним вважаємо використання N-ацетил-L-цистеїну як донатора L-цистеїну у щурів з експериментальним ЦД1.

Мета роботи

За допомогою біоімпедансного аналізу визначити склад тіла щурів з експериментальним цукровим діабетом 1 типу і його корекцією амінокислотами.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснено на базі Навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (свідоцтво про технічну компетентність МОЗ України від 21.12.2023 р. № 181/23, діє до 20.12.2028 р.). Згідно з висновком експертної комісії, дослідження відповідало національним і європейським нормам поводження з тваринами, яких використовують для наукових цілей [12, 13].

ЦД1 змодельовано на 47 нормоглікемічних, нормотензивних щурах-самцях лінії Wistar віком 18–20 місяців. Тварин поділили на 2 експериментальні групи і 3 підгрупи (рис. 1).

ЦД1 моделювали одноразовим введенням стрептозоцину (Streptozocin, S0130-1G, Sigma) в 50 мМ натрій цитратному буфері (рН 4,5) у дозі 45 мг/кг внутрішньоочеревинно *ex tempore* із подальшим вільним випоюванням розчином глюкози за схемою: 1 доба – 20 %, 2–3 – 10 %, 4–5 – 5 %; з 6 доби – питною водою. Контрольним тваринам вводили лише цитратний буфер у тому самому об'ємі. Через 2 тижні від дня індукції ЦД1 було відібрано тварин (n = 26) із концентрацією глюкози >15 мМ/л у зразку крові з хвостової вени. Вимірювання здійснили за допомогою глюкометра Contour plus (BAYER CONSUMER CARE AG, Швейцарія) і тест-смужок Contour plus (з глюкозодегідрогеназою). Після відбору тварин тримали ще 4 тижні за стандартних умов з вільним доступом до їжі та води з постійним моніторингом глікемії раз на 2 тижні натще. Через 6 тижнів від дня індукції до початку введення амінокислот взято 21 тварину, інші померли або не тримали стійку гіперглікемію.

Далі щурів групи ЦД1 поділили на 3 підгрупи. До підгрупи ЦД1-1 включили щурів з ЦД1 без введення амінокислот; до

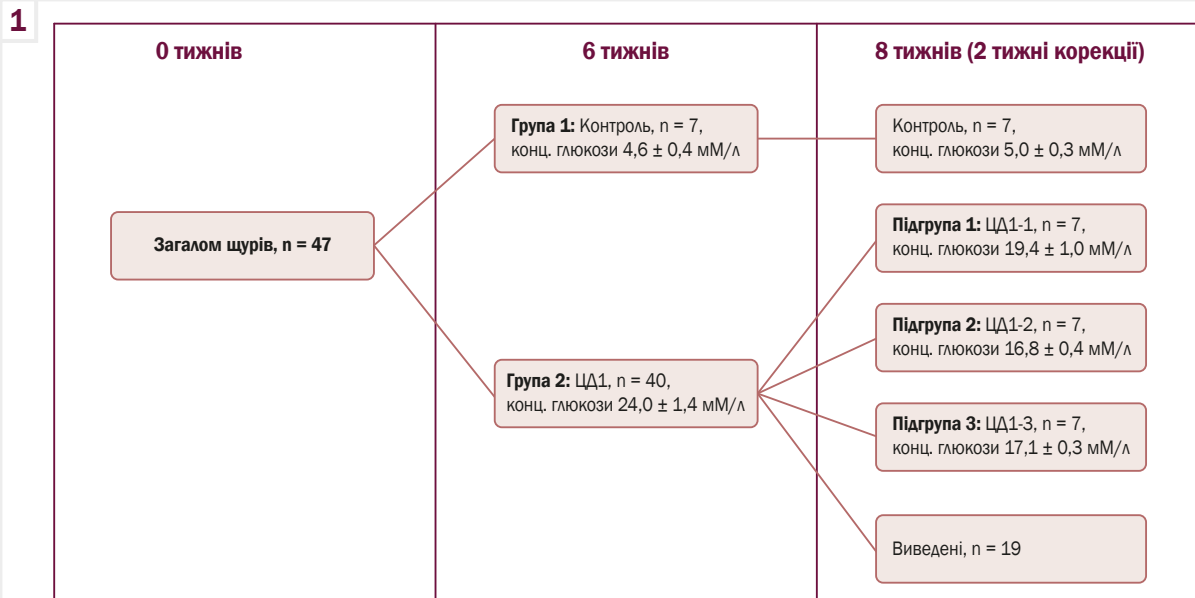


Рис. 1. Дизайн дослідження.

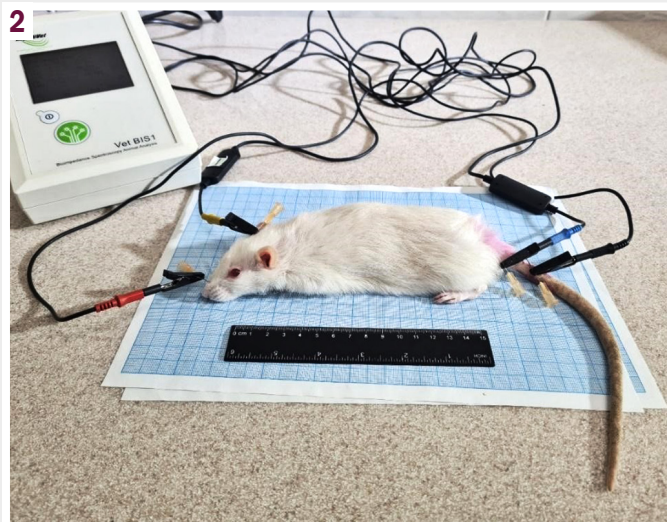


Рис. 2. Біоімпедансний аналіз складу тіла щура контрольної групи.

ЦД1-2 – щурів з ЦД1, яким давали розчин L-аргініну (2-аміно-5-гуанідиновалеріанова кислота, $C_6H_{14}N_4O_2$, ЧДА, Китай) шляхом додавання до питної води у дозуванні $1,5$ г/кг/л на день протягом 2 тижнів (7–8 тижні експерименту); до підгрупи ЦД1-3 – щурів із ЦД1 і корекцією N-ацетил-L-цистеїном (N-ацетил-L-цистеїн, $C_9H_9NO_3S$, Китай), додаючи до питної води у розрахунок $1,5$ г/кг/л на день. Розчини амінокислот оновлювали щодня о 08:00.

Перед БІС тварин обов'язково зважували (результат наведено у грамах) та вимірювали назоанальну довжину тіла (у сантиметрах). Надалі ці дані щодо кожного щура внесено в аналізатор імпедансу Vet BIS1 (ImpediVet, Австралія).

БІС здійснювали за допомогою аналізатора імпедансу Vet BIS1 (ImpediVet, Австралія) відповідно до інструкцій

виробника [14]. Як анестезіологічної супровід процедури обрано ветеринарний препарат «Медісон» (медетомідину гідрохлорид), а після закінчення дослідження тваринам вводили антидот – «Реверсон» (атипамезолу гідрохлорид). Електроди з голками вводили в ділянку носа, між вухами, біля основи хвоста та куприкової зони. Місця і глибину розміщення електродів у тілі щурів визначали відповідно до схеми від виробника (рис. 2) [15].

Під час дослідження здійснювали сканування 256 частот у діапазоні від 5 кГц до 500 кГц, необхідного для побудови графіка комплексного опору тканин. Надалі обраховували показники складу тіла:

– об'єм загальної води в організмі (ЗВО) – вихідні дані моделі комплексного імпедансу (Коула) R_0 , R_∞ і констан-

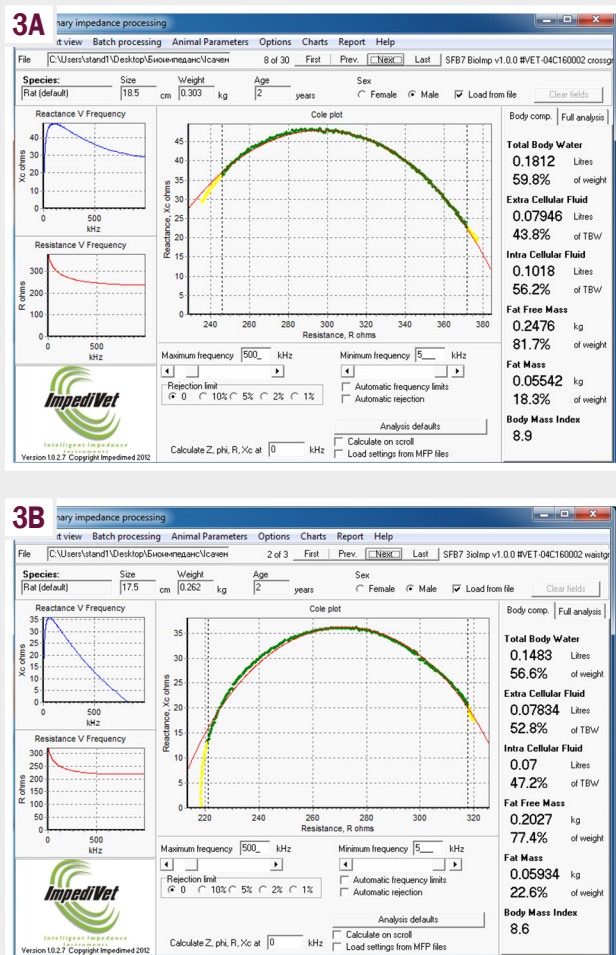


Рис. 3. Розрахунок показників у програмному забезпеченні ImpediVet.

A: щур до розвитку ЦД1; **B:** щур через 6 тижнів після індукції ЦД1.

ти питомого опору складу тіла (у мл та % від маси тіла тварини);

- об’єм позаклітинної рідини (ПКР), що отриманий за результатом моделі комплексного імпедансу (Коула) R_0 і константи питомого опору складу тіла (у мл та % від ЗВО);

- об’єм внутрішньоклітинної рідини (ВКР), що отриманий за результатами моделі комплексного імпедансу (Коула) R_0 і R_{∞} , а також константи питомого опору складу тіла (у мл та % від ЗВО);

- знежирена маса (ЗМТ), що отримана від ЗВО, поділеної на константу гідратації (у г та % від маси тіла);

- жирова маса (ЖМТ) – різниця між масою без жиру та масою тіла тварини (у г та % від маси тіла).

У кожній тварини здійснювали три послідовні вимірювання з інтервалом 3 с. Для обчислення програмне забезпечення використовує коефіцієнти, які перед дослідженням обрано в інтерфейсі саме для щурів-самців: позаклітинний питомий опір (R_{HOe}) – 324,9; внутрішньоклітинний питомий опір (R_{HOi}) – 751,8; питома щільність тіла (Density) – 1,05; пропорції тіла (Proportion) – 1; константа гідратації (Hydration) – 0,732 (рис. 3).

Статистично дані опрацювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) у програмі Statistica (ліцензія № JPZ8041382130ARCN10-J). Усі неперервні змінні перевірено на відповідність закону нормального розподілу за допомогою W-тесту Шапіро-Вілка. Неперервні змінні наведено як середнє значення (M) \pm стандартна помилка (m). Усі параметри порівняли за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу, у разі виявлення значущості – двостороннього тесту Тьюкі для численних порівнянь. Двостороннє значення $p < 0,05$ вважали статистично значущим для всіх тестів.

Результати

Визначення концентрації глюкози в крові щурів контрольної групи показало, що її рівні відповідали еуглікемічному діапазону, не мали значущих відмінностей на всіх термінах спостереження (рис. 4 А, В). У групі з ЦД1 виявлено статистично значуще збільшення глікемії, починаючи вже з 2 тижня дослідження (рис. 4 А). Введення обох амінокислот достовірно впливало на концентрацію глюкози, через 2 тижні

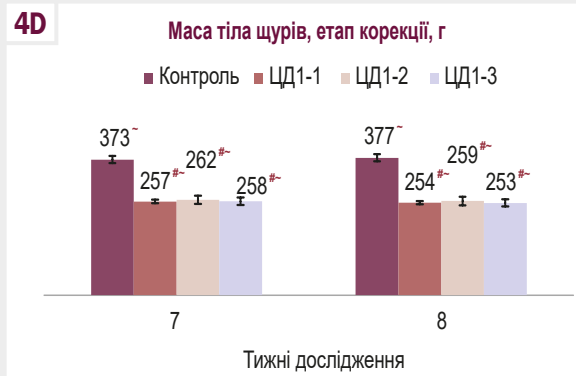
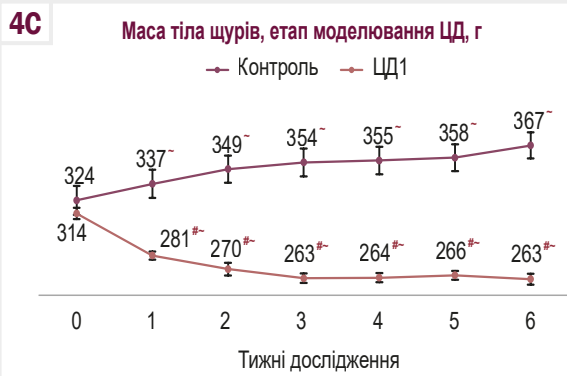
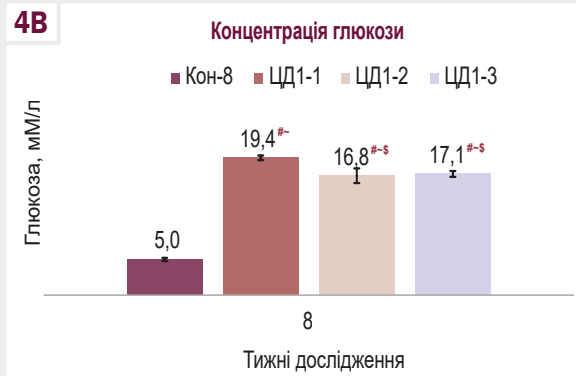


Рис. 4. Динаміка змін маси тіла і концентрації глюкози щурів експериментальних груп, $M \pm m$.

#: статистично значуща різниця показників групи щурів із ЦД1 щодо даних тварин контрольної групи у відповідний термін ($p < 0,05$); **-:** статистично значуща різниця показників груп на 6 і 8 тижні щодо даних на 0 тижні ($p < 0,05$); **S:** статистично значуща різниця показників груп ЦД1-2 і ЦД1-3 щодо ЦД1-1 ($p < 0,05$).

прийому спричинило її зниження на 13 % (ЦД1-2) і 12 % (ЦД1-3) порівняно з групою ЦД1-1 (без корекції). Втім, незважаючи на зниження, рівень глюкози залишився в гіперглікемічному діапазоні (рис. 4 B).

Маса тіла щурів групи контролю за 6 тижнів спостереження збільшилась на 13 %, а в групі ЦД1 спостерігали негативну динаміку цього показника: встановлено зниження маси тіла на 16 % порівняно з вихідними даними; це менше за контроль відповідного терміну на 40 % (рис. 4 C).

На 7 і 8 тижнях експерименту маса тіла тварин і в підгрупі ЦД1-1, і в підгрупах тварин, яким вводили амінокислоти – ЦД1-2 та ЦД1-3, статистично не відрізнялася; зниження продовжувалося порівняно і з контролем, і з вихідними даними (рис. 4 D).

Динамічні зміни маси тіла щурів експериментальних груп супроводжували значні коливання показників складу тіла (рис. 5).

Оцінювання ЖМТ і ЗМТ у групі контролю показало рівномірне статистично значуще збільшення показників на 6 і 8 тижнях зі збереженням співвідношення ЖМТ до ЗМТ у межах 1:6 протягом усього спостереження (рис. 5 A, B). Показник ЗВО за 6 тижнів значущо збільшився на 19 %, а на 8 – на 20 % (рис. 4 C, D). Таке збільшення ЗВО супроводжувалося зростанням ПКР і ВКР, але їхнє співвідношення при всіх вимірюваннях становило в межах 1,0:1,2 (рис. 5 E, F).

Розвиток ЦД1 у щурів протягом 6 тижнів призвів до втрати маси тіла внаслідок зменшення і ЖМТ (на 63 %), і ЗМТ (на 22 %) щодо контролю у відповідний термін (рис. 5 A). Це трансформувало співвідношення ЖМТ:ЗМТ щодо загальної маси тіла тварин, яке становило 1:12 (рис. 5 B). Відбулося статистично значуще зменшення ЗВО порівняно з контролем на 39 % (рис. 5 C). Така дегідратація відбувалась внаслідок зниження абсолютних показників ПКР (на 33 %) і ВКР (на 44 %) з порушенням їхнього співвідношення (1,0:1,0) у бік підвищення відносного вмісту ПКР (рис. 5 E, F).

На 8 тижні в підгрупі щурів ЦД1-1 наступне зниження загальної маси тіла відбулося шляхом зменшення ЖМТ (на 71 %) і ЗМТ (на 27 %) порівняно зі значеннями контролю у відповідний термін (рис. 5 A) з істотною зміною співвідношення ЖМТ:ЗМТ до загальної маси тіла, що становило 1:13 (рис. 5 B). У щурів підгруп ЦД1-2 і ЦД1-3, яким протягом 2 тижнів вводили амінокислоти, порівняно зі значеннями щурів ЦД1-1 спостерігали подібну до контролю динаміку змін без достовірних відмінностей між підгрупами (рис. 5 A). Співвідношення ЖМТ:ЗМТ до загальної маси в ЦД1-2 становило 1:15, у ЦД1-3 – 1:14 (рис. 5 B).

Аналіз параметрів водних об'ємів показав: на 8 тижні експерименту ЗВО в підгрупі ЦД1-1 зменшився на 50 %, у ЦД1-2 – на 49 %, а в ЦД1-3 – на 51 % порівняно з контролем відповідного терміну, але значущої різниці між підгрупами не

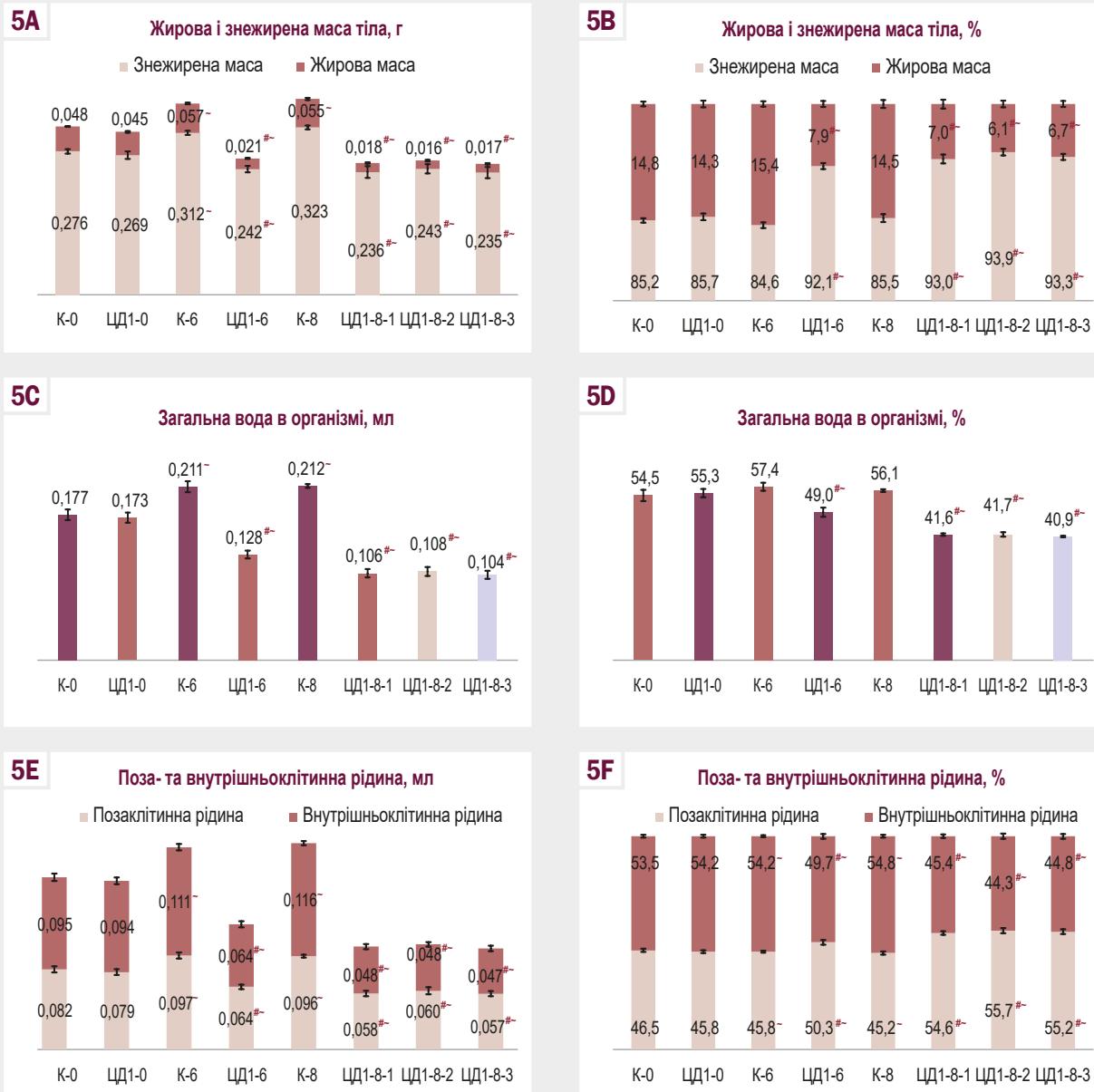


Рис. 5. Параметри складу тіла у щурів експериментальних груп, М ± m.
 #: статистично значуща різниця показників щурів із групи ЦД1 щодо даних контрольної групи у відповідний термін (p < 0,05); -: статистично значуща різниця показників груп на 6 і 8 тижні щодо даних на 0 тижні (p < 0,05).

виявлено (рис. 5 C). Такі зміни супроводжував перерозподіл ЗВО в бік зменшення відсоткової частки від загальної маси тіла в усіх трьох підгрупах порівняно з контролем (рис. 5 D). Загальна дегідратація в цих групах опосередкована зниженням абсолютних показників ПКР і ВКР, що супроводжувалось порушенням їхнього співвідношення, що більш виражене в щурів групи ЦД1-2 (1,3:1,0) порівняно з групами ЦД1-1 і ЦД1-3 – 1,2:1,0 (рис. 5 E,F).

Обговорення

В основі патогенезу ЦД1 – аномалії вуглеводного, жиrowого та білкового обмінів, що виникають через дефіцит

дії інсуліну на тканини-мішені. Це призводить до схуднення пацієнтів, яке є частим маніфестом ЦД1 [16].

Тому очікуваним стало виявлення у щурів з експериментальним діабетом зменшення маси тіла, що цілком відповідає класичній картині проявів ЦД1. Подібні зміни дослідили М. Syukri et al., які довели значний кореляційний зв'язок між вираженістю втрати маси тіла та гіперглікемією [17]. У нашому дослідженні зниження маси тіла тварин відбувалося шляхом зменшення ЖМТ, що має патогенетичне підґрунтя, зокрема посилений ліполіз на тлі дефіциту інсуліну. Ці факти підтверджено в кількох дослідженнях, що включені до метааналізу Р. Calella et al. [18].

Дослідження показало, що у щурів із ЦД1 втрата ЗМТ відбувалася на тлі порушення співвідношення ЖМТ:ЗМТ

через тривалий вплив гіперглікемії на тканини та накопичення кінцевих продуктів гліколізування в скелетних м'язах. Це, своєю чергою, спричиняє підвищення оксидативного стресу та мітохондріальну дисфункцію, а разом із втратою анаболічної дії інсуліну призводить до пошкодження м'язового компонента, який становить більшу частку ЗМТ [19].

Відомим і доведеним є факт, що гіперглікемія підвищує осмолярність крові, що разом із глюкозурією спричиняє загальну дегідратацію внаслідок внутрішньоклітинної дегідратації, що була доведена у щурів з ЦД1. На думку деяких авторів, такі зміни водного балансу в експериментальних тварин є проявами саме нефропатії через наявність GLUT2-рецепторів у нирках і GLUT2-опосередковану цитотоксичність стрептозотоцину [20]. Аргументом проти прямої нефротоксичності є короткий період його напіввиведення (15 хв) зі швидкою детоксикацією в печінці. Тому можна не брати до уваги цю можливу ланку патогенезу дегідратації, а пов'язувати її розвиток саме з глюкотоксичністю [21].

За результатами нашого дослідження, корекція амінокислотами не мала значущого впливу на зниження показників маси тіла тварин, що прогресувало, а склад їхнього тіла значущо не відрізнявся від групи ЦД1 без корекції. Втім, доведено позитивний вплив на концентрацію глюкози, що статистично значущо зменшилась під впливом амінокислот. Це дає підстави вивчати L-аргінін і L-цистеїн як перспективні біомолекули для наступного експериментального дослідження ЦД1.

Висновки

1. На тлі розвитку стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету 1 типу у щурів через 6 тижнів встановлено статистично значущу втрату маси тіла, здебільшого через зменшення жирової маси тіла з порушенням її співвідношення до знежиреної маси. Гіперглікемія спричинила загальну дегідратацію через втрату поза- і внутрішньоклітинної рідини з переважанням внутрішньоклітинної дегідратації.

2. Корегування цукрового діабету L-аргініном і N-ацетил-L-цистеїном на 8 тижні статистично значущо знизило концентрацію глюкози в підгрупах, але не вплинуло на зменшення маси тіла, що прогресувало, а також жирової та знежиреної маси, водні об'єми.

Фінансування

Дослідження здійснено в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету: «Дослідження патогенезу ремоделювання міокарда лівих камер серця при артеріальній гіпертензії, обґрунтування алгоритму діагностики та корекції» (клініко-експериментальне дослідження) за програмою наукових досліджень і розробок, що фінансується з державного бюджету, державний реєстраційний № 0123U101140 (2023–2025 pp.).

Відомості про авторів:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, Україна; заслужений діяч науки і техніки України.

ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

Ісаченко М. І., PhD, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3026-1012

Information about the authors:

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with the course of Normal Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine; Honored Science and Technology Figure of Ukraine.

Isachenko M. I., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with the course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine; ESC Member.

References

- Naranjo-Hernández D, Reina-Tosina J, Roa LM, Barbarov-Rostán G, Aresté-Fosalba N, Lara-Ruiz A, et al. Smart Bioimpedance Spectroscopy Device for Body Composition Estimation. *Sensors (Basel, Switzerland)*. 2019;20(1):70. doi: 10.3390/s20010070
- van der Sande FM, van de Wal-Visscher ER, Stuard S, Moissl U, Kooman JP. Using Bioimpedance Spectroscopy to Assess Volume Status in Dialysis Patients. *Blood Purif*. 2020;49(1-2):178-84. doi: 10.1159/000504079
- Pouragha H, Amiri M, Saraei M, Pouryaghoub G, Mehrdad R. Body impedance analyzer and anthropometric indicators; predictors of metabolic syndrome. *J Diabetes Metab Disord*. 2021;20(2):1169-78. doi: 10.1007/s40200-021-00836-w
- Catapano A, Trinchese G, Cimmino F, Petrella L, D'Angelo M, Di Maio G, et al. Impedance Analysis to Evaluate Nutritional Status in Physiological and Pathological Conditions. *Nutrients*. 2023;15(10):2264. doi: 10.3390/nu15102264
- Cortés-Álvarez NY, Vuelvas-Olmos CR, Pinto-González MF, Guzmán-Muñiz J, Gonzalez-Perez O, Moy-López NA. A high-fat diet during pregnancy impairs memory acquisition and increases leptin receptor expression in the hippocampus of rat offspring. *Nutr Neurosci*. 2022;25(1):146-58. doi: 10.1080/1028415X.2020.1728473
- Smith D Jr, Johnson M, Nagy T. Precision and accuracy of bioimpedance spectroscopy for determination of in vivo body composition in rats. *Int J Body Compos Res*. 2009;7(1):21-6.
- Ward LC, Battersby KJ. Assessment of body composition of rats by bioimpedance spectroscopy: validation against dual-energy X-ray absorptiometry. *Scandinavian journal of laboratory animal science*. 2009;36(3):253-61.
- Ivanenko T, Hrekova T, Abramova T, Shiryayeva A, Vasilenko G. Influence of experimental metabolic syndrome on bioimpedance spectroscopy indicators of rat body. *J Educ Health Sport*. 2021;11(8):470-9. doi: 10.12775/JEHS.2021.11.08.053
- Srinivasan V, Radhakrishnan S, Angayarkanni N, Sulochana KN. Anti-diabetic effect of free amino acids supplementation in human visceral adipocytes through adiponectin-dependent mechanism. *Indian J Med Res*. 2019;149(1):41-6. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1782_16
- Forzano I, Avvisato R, Varzideh F, Jankauskas SS, Cioppa A, Mone P, et al. L-Arginine in diabetes: clinical and preclinical evidence. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):89. doi: 10.1186/s12933-023-01827-2
- Xing S, Guo Z, Lang J, Zhou M, Cao J, He H, et al. N-Acetyl-L-cysteine ameliorates gestational diabetes mellitus by inhibiting oxidative stress. *Gynecol Endocrinol*. 2023;39(1):2189969. doi: 10.1080/09513590.2023.2189969
- European Union. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, L276/33, 2010.
- Verkhovna Rada of Ukraine. [On the Protection of Animals from Brutal Treatment. Law of Ukraine dated 2006 Feb 21 No. 3447-IV] [Internet]. 2006 [cited 2024 Nov 1]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15?lang=en#Text>
- Vet BIS1 instructions for use. ImpediMed. 2007 May 23 [cited 2024 Nov 1]. Available from: https://support.brck.co.jp/download_file/force/280/511
- ImpediVet Rodent Measurement Guide [Internet]. 2023 [cited 2024 Nov 1]. Available from: http://impedimed.com/wp-content/uploads/2019/06/Rodent_Measurement_Guide_Rev_A.pdf

16. Venyo A. Diabetes Mellitus: A Review and Update. *Journal of Ophthalmology Research Reviews & Reports*. 2023;4(4):1024. doi: [10.47363/JORRR/2023\(4\)144](https://doi.org/10.47363/JORRR/2023(4)144)
17. Syukri M, Zaini LM, Kartasasmita AS, Gondhowiardjo TD, Lesmana R. Effects of SGLT2 inhibitor administration on blood glucose level and body weight in type 1 diabetes rat model. *Narra J*. 2023;3(2):e194. doi: [10.52225/narra.v3i2.194](https://doi.org/10.52225/narra.v3i2.194)
18. Calella P, Gallè F, Fornelli G, Liguori G, Valerio G. Type 1 diabetes and body composition in youth: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2020;36(1):e3211. doi: [10.1002/dmrr.3211](https://doi.org/10.1002/dmrr.3211)
19. Alabadi B, Civera M, De la Rosa A, Martinez-Hervas S, Gomez-Cabrera MC, Real JT. Low Muscle Mass Is Associated with Poorer Glycemic Control and Higher Oxidative Stress in Older Patients with Type 2 Diabetes. *Nutrients*. 2023;15(14):3167. doi: [10.3390/nu15143167](https://doi.org/10.3390/nu15143167)
20. Nakai K, Umehara M, Minamida A, Yamauchi-Sawada H, Sunahara Y, Matoba Y, et al. Streptozotocin induces renal proximal tubular injury through p53 signaling activation. *Sci Rep*. 2023;13(1):8705. doi: [10.1038/s41598-023-35850-w](https://doi.org/10.1038/s41598-023-35850-w)
21. Alblihd MA, Alsharif KF, Hamad AA, Ali FA, Hussein MT, Alhegaili AS, et al. Okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] improved blood glucose and restored histopathological alterations in splenic tissues in a rat model with streptozotocin-induced type 1 diabetes through CD8+ T cells and NF- κ B expression. *Front Vet Sci*. 2023;10:1268968. doi: [10.3389/fvets.2023.1268968](https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1268968)

Предиктори тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії, що асоційована з коронавірусною інфекцією

С. С. Авгайтис^{ID}*

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

Ключові слова:

негоспітальна пневмонія, коронавірусна інфекція, COVID-19, SARS-CoV-2, інтерлейкін-6, інтерлейкін-10, ВЧ-СРБ.

Keywords:

pneumonia, coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2, interleukin-6, interleukin-10, hs-CRP.

Надійшла до редакції /
Received: 06.09.2024

Після доопрацювання /
Revised: 09.11.2024

Схвалено до друку /
Accepted: 18.11.2024

Конфлікт інтересів:
відсутній.

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

***E-mail:**
dr.avgaitis@gmail.com

Мета роботи – визначити предиктори тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії, що асоційована з коронавірусною інфекцією.

Матеріали і методи. Здійснили відкрите, проспективне обсерваційне дослідження (з січня 2021 до лютого 2022 року) в поліклінічному відділенні КНП «Херсонська міська клінічна лікарня мені Афанасія і Ольги Тропіних» Херсонської міської ради. Під спостереженням перебували 102 хворих на негоспітальну пневмонію віком від 40 до 65 років, які мали позитивний тест на SARS-CoV-2. Інтерлейкін-6, інтерлейкін-10, високочутливий С-реактивний білок (ВЧ-СРБ) визначали у плазмі крові методом імуноферментного аналізу за допомогою стандартних наборів («ВЧ С-РБ-ІФА-Бест», «ІЛ-6-ІФА-Бест», «ІЛ-10-ІФА-Бест») відповідно до інструкції виробника.

Результати. Аналіз однофакторних логістичних регресійних моделей показав: вік пацієнта, частота серцевих скорочень і SpO_2 не були значущими щодо виникнення тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії (НГП). Такі показники, як життєва ємність легень, рівень глюкози в крові, С-реактивний білок, ІЛ-6 та співвідношення ІЛ-6 / ІЛ-10, за результатами логістичного регресійного аналізу, були предикторами тяжкого перебігу НГП. Глюкоза крові, ІЛ-6 і співвідношення ІЛ-6 / ІЛ-10 втратили прогностичну силу в багатофакторних логістичних регресійних моделях розвитку тяжкої НГП. За результатами мультифакторного регресійного аналізу, предикторами тяжкого перебігу НГП були об'єм ураження легень, за даними комп'ютерної томографії (КТ), і рівень ВЧ-СРБ. Багатофакторний логістичний регресійний аналіз показав: незалежними предикторами тяжкого перебігу НГП є об'єм ураження легень $>20\%$, за даними КТ (OR = 1,28, 95 % ДІ OR 1,11–1,48), і рівень ВЧ-СРБ $>13,50$ мг/л (OR = 2,22, 95 % ДІ OR 1,50–3,31). Для прогнозування розвитку тяжкої НГП ВЧ-СРБ має перевагу над стандартною моделлю (AUC = 0,92 vs AUC = 0,72, $p < 0,05$).

Висновки. За результатами мультиваріантного логістичного регресійного аналізу, найбільше значення щодо розвитку тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії, що асоційована з коронавірусною інфекцією, мали такі незалежні предиктори, як об'єм ураження легень, за даними КТ, і ВЧ-СРБ. Для цих показників встановлено найбільші площі під ROC-кривою. Визначення рівня С-реактивного білка високочутливим методом є важливим для пацієнтів із пневмонією середньої тяжкості, що асоційована з коронавірусною інфекцією, для оцінювання ризику виникнення тяжкого перебігу захворювання.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 255-259

Predictors of severe community-acquired pneumonia associated with coronavirus infection

S. S. Avhaitis

Aim of the study. To determine the predictors of severe community-acquired pneumonia associated with coronavirus infection.

Materials and methods. To achieve the aim and solve the problems, an open, prospective observational study was conducted: from January 2021 to February 2022, 102 patients with community-acquired pneumonia (CAP) aged 40 to 65 years with a positive test for SARS-CoV-2 were observed in the outpatient department of the Kherson City Clinical Hospital named after Athanasius and Olga Tropinin of the Kherson City Council. Determination of interleukin-6, interleukin-10, and high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) was performed in blood plasma by enzyme-linked immunosorbent assay using standardized kits: "hs-CRP-ELISA-Best", "IL-6-ELISA-Best", "IL-10-ELISA-Best" in accordance with the attached instructions.

Results. The analysis of univariate logistic regression models showed that such indicators as patient age, heart rate and SpO_2 were not important in the occurrence of severe CAP. Indicators such as vital capacity of the lung, blood glucose, C-reactive protein, IL-6 and IL-6 / IL-10 ratio were predictors of severe CAP according to the results of logistic regression analysis. Blood glucose, IL-6, and the IL-6 / IL-10 ratio lost their prognostic power in multivariable logistic regression models of severe CAP. According to the results of multivariate regression analysis, the predictors of severe CAP were the volume of lung lesions on computed tomography (CT) and the level of hs-CRP. Multivariate logistic regression analysis showed that independent predictors of severe CAP were the volume of lung lesion more than 20 % on CT (OR = 1.28, 95 % CI OR 1.11–1.48), and the level of

hs-C-reactive protein >13.50 mg/L (OR = 2.22, 95 % CI OR 1.50–3.31). In terms of predicting the development of severe CAP, hs-CRP has an advantage over the standard model (AUC = 0.92 vs AUC = 0.72, $p < 0.05$).

Conclusions. According to multivariate logistic regression analysis, the following independent predictors were most significant for the occurrence of severe community-acquired pneumonia associated with coronavirus infection: lung lesion volume on CT and high hs-CRP. These indicators also had the largest areas under the ROC curve among those analyzed. Determining the level of C-reactive protein by a highly sensitive method is important for patients with moderate pneumonia associated with coronavirus infection to assess the risk of severe disease.

Modern medical technology. 2024;16(4):255-259

Пандемія COVID-19, що викликана коронавірусом-2 (SARS-CoV-2), стала глобальною загрозою громадській охороні здоров'я та призвела до безпрецедентного навантаження на глобальну діяльність. Найчастіше перебіг захворювання характеризується легкими симптомами, однак у частини інфікованих розвивається тяжка негоспітальна пневмонія, що може спричинити гострий респіраторний дистрес-синдром, гостру дихальну недостатність, синдром поліорганної дисфункції та навіть смерть. На початку пандемії не були зрозумілі ні патогенез цього нового вірусного захворювання, ні стратегії його лікування [1,2].

Пацієнти з COVID-19-асоційованою пневмонією можуть мати різний ступінь тяжкості захворювання: від легкої, що вражає менше ніж 10 % паренхіми легень, до тяжкої. Тому лікування пацієнтів має бути адаптованим до тяжкості клінічної ситуації. Відповідно до накопиченого досвіду, більшість інфікованих осіб із помірним ураженням легень можуть відновитися в амбулаторних умовах. Втім, окремі пацієнти потребують ретельного лікування в умовах стаціонара. У багатьох публікаціях наведено клінічні та біологічні особливості хворих, які інфіковані COVID-19, а кілька міжнародних наукових товариств розробили протоколи для лікування цього захворювання [3,4].

Виявлення пацієнтів, інфікованих SARS-CoV-2, із високим ризиком тяжкого перебігу захворювання має вирішальне значення в роботі сімейного лікаря, оскільки це визначає тактику ведення пацієнта надалі. Нині чимало факторів прогнозу, зокрема кількість лімфоцитів, лактатдегідрогеназа, інтерлейкін-6, прокальцитонін, вивчали під час досліджень. Однак прогностична сила кожного з цих показників при різних формах захворювання та прогноз залишаються здебільшого нез'ясованими. У зв'язку зі значним поширенням і різноманітністю і симптоматики, й перебігу, наслідків COVID-19, особливої актуальності набуває розуміння факторів, що визначають ризик тяжкого перебігу захворювання та можливих ускладнень. Відтак доцільним є створення прогностичних моделей виникнення тяжкого перебігу COVID-19-асоційованої пневмонії [5,6].

Мета роботи

Визначити предиктори тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії, що асоційована з коронавірусною інфекцією.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили відкрите, проспективне обсерваційне дослідження (з січня 2021 до лютого 2022 року) в поліклінічному

відділенні КНП «Херсонська міська клінічна лікарня мені Афанасія і Ольги Тропіних» Херсонської міської ради. Під спостереженням перебували 102 хворих на негоспітальну пневмонію віком від 40 до 65 років, які мали позитивний тест на SARS-CoV-2. Термін спостереження за пацієнтами становив 30 діб від початку захворювання.

Перед залученням до дослідження пацієнти підписали форму добровільної згоди на участь. Дизайн дослідження погоджений з локальною комісією з питань біоетики та відповідав морально-етичним нормам біоетики, що визначені чинним законодавством України, правилами ICH/GCP, Гельсінської декларацією прав людини (1964 року), Конвенцією Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 року).

До дослідження залучали чоловіків і жінок віком 40–65 років, у котрих діагностовано негоспітальну двосторонню вірусну пневмонію та які надали письмову інформовану згоду на участь. Критерії виключення – вагітність, діагностована неконтрольована артеріальна гіпертензія, гіпертонічна хвороба III стадії, цукровий діабет, вроджені та набуті гемодинамічно значущі вади серця, хронічна серцева недостатність II–III стадії, онкологічні захворювання, наявність > 75 % ураження легень, за даними комп'ютерної томографії (КТ), виявлені алкогольна залежність, наркоманія, психічні розлади, а також відмова від участі в дослідженні.

Усіх пацієнтів обстежили для підтвердження відповідності критеріям залучення / виключення. Діагноз негоспітальної пневмонії (НГП) встановили відповідно до адаптованої клінічної настанови на засадах доказової медицини «Негоспітальна пневмонія у дорослих, 2019, COVID-19», наказ МОЗ України від 17.09.2020 р. Спостереження за пацієнтам здійснили відповідно до наказу МОЗ України № 722 від 28.03.2020 р. зі змінами № 2122.

Обстежених, котрих залучили до дослідження, поділили на групи залежно від виникнення тяжкого перебігу НГП, що асоційована з COVID-19. До першої групи залучені 32 пацієнти з перебігом захворювання середньої тяжкості (середній вік – $57,5 \pm 1,3$ року); до другої – 70 хворих із тяжким перебігом НГП, що асоційована з COVID-19 (середній вік – $56,2 \pm 0,9$ року). Групи пацієнтів зіставні за віком і соціальним статусом.

Рівні інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10 та високочутливого С-реактивного білка (ВЧ-СРБ / hs-CRP) у плазмі крові визначали імуноферментним методом, використовуючи стандартні набори «ВЧ-С-реактивний білок HF-ELISA-Бест», «ІЛ-6-ELISA-Бест» та «ІЛ-10-ELISA-Бест». Дослідження здійснили в акредитованій лабораторії КНП «Херсонська міська клінічна лікарня мені Афанасія і Ольги Тропіних» Херсонської

Таблиця 1. Значущість варіанс для виникнення тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії за результатами однофакторного та мультифакторного регресійного аналізу

Показник, одиниці вимірювання	Уніваріантна модель		Мультиваріантна модель		
	χ^2 Вальда	p-рівень	Coefficient	Std. error	p-рівень
Вік, років	0,93	p = 0,340	–	–	–
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	0,06	p = 0,810	–	–	–
SpO ₂ , %	2,44	p = 0,120	–	–	–
Об'єм ураження легень, %	13,54	p < 0,001	0,25	0,07	p < 0,001
Глюкоза крові, ммоль/л	5,67	p = 0,020	-2,48	1,27	p = 0,060
ВЧ-СРБ, мг/л	54,37	p < 0,001	0,80	0,20	p < 0,001
ІЛ-6, пг/мл	5,94	p = 0,020	0,16	0,39	p = 0,680
ІЛ-6 / ІЛ-10	6,12	p = 0,010	-0,62	1,64	p = 0,710

міської ради. Згідно з інструкцією, метод ІФА ґрунтується на імунологічній «сендвіч»-реакції. Зразки плазми, що містять певну кількість інтерлейкіну-6 (IL-10, hs-CRP), та стандартні зразки проходять процес інкубації з моноклональними антитілами до інтерлейкіну-6 (IL-10, hs-CRP) людини та антитілами до інтерлейкіну-6 (IL-10, hs-CRP) людини, кон'югованими пероксидазою. Процес інкубації проходить до утворення «сендвіч»-комплексу. Після додавання розчину субстрату утворюється забарвлений продукт відповідно до кількості інтерлейкіну-6 (IL-10, hs-CRP), що є в стандартах або зразках. Оптичну густину оцінювали спектрофотометрично при довжині хвилі $\lambda = 450$ нм. Величину екзистенції визначали за допомогою планшетного ридера HTI Immunochem-2100 (High Technology Inc.) Вміст ІЛ-6 (IL-10, hs-CRP) у зразках визначали після інтерполяції вимірних даних на стандартну калібрувальну криву. Вміст інтерлейкіну-6 (інтерлейкіну-10) в плазмі вимірювали в пг/мл, а концентрацію С-реактивного білка в плазмі – у мг/л.

Комп'ютерну томографію легенів виконали на комп'ютерному комплексі Somatom goNOW (Siemens, Німеччина). Під час дослідження пацієнт перебував у положенні лежачи на спині з піднятими руками. Діапазон сканування – від апертури грудної клітки до задніх реберно-діафрагмальних синусів; використали стандартну колимацію зрізу.

Під час перевірки статистичних гіпотез нульову гіпотезу відкидали при рівні статистичної значущості $p < 0,05$, що відповідає значенням, прийнятим у медико-біологічних дослідженнях. Для аналізу бінарних змінних застосовували метод логістичної регресії та ROC-аналіз (Receiver Operating Characteristic curve analysis), з обрахунком площі під ROC-кривою (Area under the ROC curve, AUC) та її 95 % довірчого інтервалу. Статистично значущою вважали величину AUC більше ніж 0,5. Обраховували чутливість (Se), специфічність (Sp), точку відсікання визначали за допомогою J-індексу Youdena. Під час порівняння AUC застосували метод перекриття довірчих інтервалів. Для оцінювання значущості впливу кожного з виділених чинників використано метод побудови логістичної регресійної моделі; оцінювання здійснили за критерієм Вальда (χ^2). Визначили відношення шансів (OR – odds ratio) і 95-відсотковий довірчий інтервал.

Результати

Використали два масиви даних: перший – хворі з перебігом захворювання середньої тяжкості ($n = 32$), другий ($n = 70$) – пацієнти з тяжким перебігом НГП. Обрали вісім показників, виходячи з припущення, що вони можуть впливати на розвиток тяжкого перебігу НГП, незалежно від величини дисперсії.

Результати уні- та мультиваріантного логістичного регресійного аналізу найбільш значущих варіанс наведено в *таблиці 1*.

Аналіз однофакторних логістичних регресійних моделей показав: вік пацієнта, частота серцевих скорочень і SpO₂ не прогнозують виникнення тяжкого перебігу НГП. Лише такі показники, як об'єм ураження легень, рівень глюкози в крові, С-реактивний білок, ІЛ-6 та співвідношення ІЛ-6 / ІЛ-10 можуть мати прогностичну цінність. Тільки ці показники надалі включили до багатофакторної логістичної регресійної моделі. Згідно з даними, що наведені в *таблиці 1*, рівень глюкози в крові, ІЛ-6 і співвідношення ІЛ-6 / ІЛ-10, втратили свою прогностичну цінність у багатофакторній логістичній регресійній моделі щодо розвитку тяжкого перебігу НГП. Незалежні предиктори тяжкого перебігу НГП – об'єм ураження легень на КТ і ВЧ-СРБ. Значення відношення шансів розвитку тяжкого перебігу НГП за результатами багатофакторного регресійного аналізу наведено в *таблиці 2*.

Мультиваріантний логістичний регресійний аналіз показав: незалежні предиктори тяжкого перебігу НГП – об'єм ураження легень, за даними КТ (OR = 1,28, 95 % ДІ OR 1,11–1,48), і ВЧ-СРБ (OR = 2,22, 95 % ДІ OR 1,50–3,31).

Як стандартну модель обрано такий метод дослідження, як КТ легень. Порівняння наступних показників здійснили зі стандартною моделлю методом визначення перекриття довірчих інтервалів AUC. Прогностична цінність маркерів імунозапальної відповіді щодо тяжкого НГП визначена за допомогою ROC-аналізу. Результати наведено в *таблиці 3*.

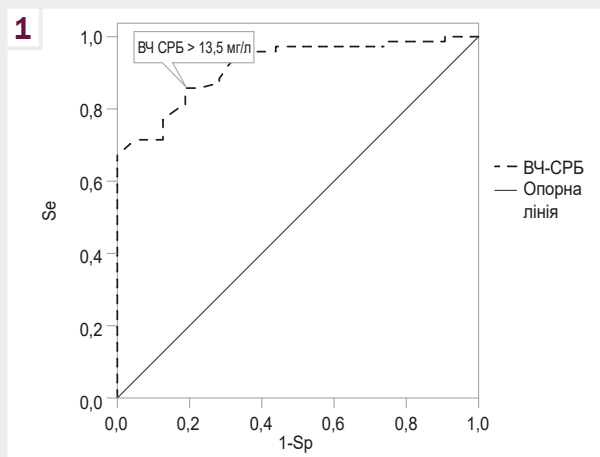
У прогнозуванні тяжкого перебігу НГП ІЛ-10 мав найменшу площу під ROC-кривою (AUC = 0,52) серед проаналізованих маркерів імунозапальної відповіді та достовірно поступався стандартній моделі за показником площі під ROC-кривою (AUC = 0,72, 95 % ДІ 0,623–0,805). Співвід-

Таблиця 2. Співвідношення шансів розвитку тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії за результатами багатофакторного регресійного аналізу

Показник, одиниці вимірювання	Мультиваріантна модель		
	OR	95 % ДІ OR	p-рівень
Об'єм ураження легень, %	1,28	1,11–1,48	p < 0,001
ВЧ-СРБ, мг/л	2,22	1,50–3,31	p < 0,001

Таблиця 3. Прогностична цінність маркерів імунозапальної відповіді щодо тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії

Метод	Cut off	Se, %	Sp, %	AUC	95 % ДІ AUC
Стандартна модель	20,00	64,29	68,75	0,72	0,623–0,805
ВЧ-СРБ, мг/л	13,50	85,71	81,25	0,92	0,846–0,963
ІЛ-6, пг/мл	7,49	80,00	46,88	0,65	0,552–0,744
ІЛ-10, пг/мл	5,09	71,43	18,75	0,52	0,414–0,615
ІЛ-6 / ІЛ-10	1,51	85,71	37,50	0,62	0,523–0,718

**Рис. 1.** ROC-аналіз порівняння AUC стандартної моделі з ВЧ-СРБ (0,72 порівняно з 0,92 відповідно, p < 0,05).

ношення ІЛ-6 / ІЛ-10 (AUC = 0,62) при точці відсікання 1,51 мало чутливість 85,71 % і специфічність 37,50 % щодо прогнозування виникнення тяжкого перебігу НГП. Площа під ROC-кривою для ВЧ-СРБ найбільша з-поміж проаналізованих показників (AUC = 0,92, 95 % ДІ 0,846–0,963), з чутливістю 85,71 % і специфічністю 81,25 % при точці відсікання 13,50 мг/л. Площа під ROC-кривою для ВЧ-СРБ (AUC = 0,92) достовірно більша порівняно з AUC = 0,72, 95 % ДІ 0,623–0,805 стандартної моделі (p < 0,05).

Точки розподілу ВЧ-СРБ і стандартної моделі (об'єм ураження легень за КТ) для прогнозування виникнення тяжкого перебігу НГП наведено на рис. 1.

В аспекті прогнозування розвитку тяжкої НГП за площею під ROC-кривою, ВЧ-СРБ переважає стандартну модель. З погляду чутливості та специфічності, ВЧ-СРБ при точці відсікання 13,50 мг/л також перевершує стандартну модель: 85,71 % порівняно з 64,29 % та 81,25 % порівняно з 68,75 % відповідно.

Обговорення

Дослідження, що аналізують причини тяжкого перебігу COVID-19, зазвичай вказують на такі патології, як ожиріння, артеріальна гіпертензія та інші серцево-судинні захворювання, а також супутні захворювання, як-от цукровий діабет, хронічні захворювання нирок, хронічні обструктивні захворювання легень і рак, як на негативні фактори. Клінічна картина COVID-19 дуже індивідуальна, і інфікування вірусом може мати дуже різний перебіг. Вона залежить і від безпосереднього впливу вірусу на клітини, і від імунної відповіді організму на нього, що призводить до розвитку «цитокінового шторму», що може спричинити поліорганне ураження [7,8].

Нині визначають особливу роль, яку відіграє імунний статус пацієнта, оскільки з'являється все більше даних щодо імунопатогенезу COVID-19. Мультиорганне ураження запускає дисфункціональну імунну відповідь на вірус, який може зберігатися в контексті, аналогічному синдрому вивільнення цитокінів. За результатами досліджень, повідомляли про під-

вищені рівні різних інтерлейкінів та хемокінів у плазмі пацієнтів із COVID-19. Однак було складно виявити закономірність, пов'язану з поганим прогнозом. Серед цитокінів підвищені рівні ІЛ-6 постійно реєструють у пацієнтів із COVID-19, що корелює з активністю захворювання [9, 10, 11].

У праці M. Riveiro-Barciela et al. визначено, що зміни рівнів ІЛ-6 і феритину дають змогу виявляти пацієнтів із COVID-19, яким загрожує тяжкий перебіг захворювання [12]. Отримані у нашому дослідженні дані щодо ІЛ-6 показали меншу предикторну цінність за якістю моделі щодо тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії, яка асоційована з коронавірусною інфекцією.

Результати дослідження, що здійснили, збігаються з даними, які одержали M. Ahnach et al. [13]. Автори дійшли висновку, що АUC для СРБ на рівні 0,87 була значно вищою за всі інші параметри. Крім того, СРБ незалежно пов'язаний із тяжкістю захворювання COVID-19 (OR = 1,11, 95 % ДІ 1,01–1,22). Інтерпретація кривих ROC-показників і рівня СРБ у нашому дослідженні підтвердила, що це надійний предиктор несприятливого наслідку захворювання. Ба більше, саме цей показник був незалежним предиктором тяжкого перебігу захворювання порівняно з іншими факторами [14, 15, 16].

Отже, встановили, що порівняно з іншими показниками рівень ВЧ-СРБ істотно пов'язаний із тяжкістю перебігу негоспітальної пневмонії, яка асоційована з COVID-19. Рівень ВЧ-СРБ, визначений під час обстеження хворих, є простим для оцінювання та незалежним фактором, який може бути корисним для раннього передбачення розвитку тяжкості НГП і полегшує ухвалення рішень щодо тактики лікування.

Висновки

1. За результатами мультиваріантного логістичного регресійного аналізу, найбільше значення щодо виникнення тяжкого перебігу негоспітальної пневмонії, що асоційована з коронавірусною інфекцією, мали такі незалежні предиктори, як об'єм ураження легень, за даними комп'ютерної томографії, та високочутливий С-реактивний білок. Саме ці показники з-поміж аналізованих мали найбільші площі під ROC-кривою.

2. Визначення рівня С-реактивного білка високочутливим методом є важливим для пацієнтів із пневмонією середньої тяжкості, що асоційована з коронавірусною інфекцією, для оцінювання ризику виникнення тяжкого перебігу захворювання.

Перспективи подальшого дослідження. С-реактивний білок як неспецифічний маркер запалення тісно пов'язаний із тяжкістю та прогнозом надмірних запальних реакцій при пневмонії, що асоційована з COVID-19, оскільки є не тільки біомаркером запалення, але й безпосереднім учасником патологічного процесу. Оцінювання динамічних змін ВЧ-СРБ під впливом лікування хворих на COVID-19 може покращити клінічний результат лікування. Цим обґрунтована доцільність наступних досліджень.

Відомості про автора:

Авгайтис С. С., аспірант каф. загальної практики – сімейної медицини, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти,

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0009-0003-1288-4114

Information about the author:

Avhaitis S. S., PhD student of the Department of General Practice – Family Medicine, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Phelan AL, Katz R, Gostin LO. The novel coronavirus originating in Wuhan, China: challenges for global health governance. *JAMA*. 2020;323(8):709-10. doi: [10.1001/jama.2020.1097](https://doi.org/10.1001/jama.2020.1097)
- Hoehl S, Rabenau H, Berger A, Kortenbusch M, Cinatl J, Bojkova D, et al. Evidence of SARS-CoV-2 Infection in Returning Travelers from Wuhan, China. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1278-80. doi: [10.1056/NEJMc2001899](https://doi.org/10.1056/NEJMc2001899)
- Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507-13. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
- Li LQ, Huang T, Wang YQ, Wang ZP, Liang Y, Huang TB, et al. COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis. *J Med Virol*. 2020;92(6):577-83. doi: [10.1002/jmv.25757](https://doi.org/10.1002/jmv.25757)
- Zhang J, Yu M, Tong S, Liu LY, Tang LV. Predictive factors for disease progression in hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *J Clin Virol*. 2020;127:104392. doi: [10.1016/j.jcv.2020.104392](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104392)
- Tan L, Kang X, Ji X, Li G, Wang Q, Li Y, et al. Validation of Predictors of Disease Severity and Outcomes in COVID-19 Patients: A Descriptive and Retrospective Study. *Med*. 2020;1(1):128-38.e3. doi: [10.1016/j.medj.2020.05.002](https://doi.org/10.1016/j.medj.2020.05.002)
- Gallo Marin B, Aghagholi G, Lavine K, Yang L, Siff EJ, Chiang SS, et al. Predictors of COVID-19 severity: A literature review. *Rev Med Virol*. 2021;31(1):1-10. doi: [10.1002/rmv.2146](https://doi.org/10.1002/rmv.2146)
- Makhoul E, Aklinski JL, Miller J, Leonard C, Backer S, Kahar P, et al. A Review of COVID-19 in Relation to Metabolic Syndrome: Obesity, Hypertension, Diabetes, and Dyslipidemia. *Cureus*. 2022;14(7):e27438. doi: [10.7759/cureus.27438](https://doi.org/10.7759/cureus.27438)
- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, 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](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ; HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*. 2020;395(10229):1033-4. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- Gao Y, Li T, Han M, Li X, Wu D, Xu Y, et al. Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *J Med Virol*. 2020;92(7):791-6. doi: [10.1002/jmv.25770](https://doi.org/10.1002/jmv.25770)
- Riveiro-Barciela M, Labrador-Horrillo M, Camps-Relats L, González-Sans D, Ventura-Cots M, Terrones-Peinador M, et al. Simple predictive models identify patients with COVID-19 pneumonia and poor prognosis. *PLoS One*. 2020;15(12):e0244627. doi: [10.1371/journal.pone.0244627](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244627)
- Ahnach M, Zbiri S, Nejari S, Ousti F, Elkettani C. C-reactive protein as an early predictor of COVID-19 severity. *J Med Biochem*. 2020;39(4):500-7. doi: [10.5937/jomb0-27554](https://doi.org/10.5937/jomb0-27554)
- Vasileva D, Badawi A. C-reactive protein as a biomarker of severe H1N1 influenza. *Inflamm Res*. 2019;68(1):39-46. doi: [10.1007/s00011-018-1188-x](https://doi.org/10.1007/s00011-018-1188-x)
- Ali N. Elevated level of C-reactive protein may be an early marker to predict risk for severity of COVID-19. *J Med Virol*. 2020;92(11):2409-11. doi: [10.1002/jmv.26097](https://doi.org/10.1002/jmv.26097)
- Wang L. C-reactive protein levels in the early stage of COVID-19. *Med Mal Infect*. 2020;50(4):332-4. doi: [10.1016/j.medmal.2020.03.007](https://doi.org/10.1016/j.medmal.2020.03.007)

Предиктори рентгенологічного прогресування ревматоїдного артриту на тлі хворобомодифікувальної терапії традиційними синтетичними засобами

О. Б. Яременко  *A,B,E,F, Г. М. Микитенко  A,B,C,D

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

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

Ключові слова:

ревматоїдний артрит, рентгенологічне прогресування, предиктори.

Keywords:

rheumatoid arthritis, radiological progression, predictors.

Надійшла до редакції /
Received: 06.09.2024

Після доопрацювання /
Revised: 11.10.2024

Схвалено до друку /
Accepted: 21.10.2024

Конфлікт інтересів:
Відсутній.

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

***E-mail:**
o.b.iaremenko@gmail.com

Мета роботи – вивчити предиктори рентгенологічного прогресування ревматоїдного артриту (РА) на тлі хворобомодифікувальної терапії (ХМТ) традиційними синтетичними засобами.

Матеріали і методи. До дослідження залучили 163 хворих на РА, яким було призначено ХМТ традиційними синтетичними базисними засобами. 3-поміж обстежених – 141 жінка (86,5 %). Середній вік хворих становив $50,1 \pm 12,0$ року, тривалість хвороби – $37,5 \pm 56,3$ місяця. Ревматоїдний фактор (РФ) виявлено у 53,3 % осіб, антитіла до циклічного цитрулінованого пептиду (АЦЦП) – у 54,0 %. Незалежні предиктори рентгенологічного прогресування РА визначено методом регресійного аналізу з розрахунком співвідношення ризиків (СР). Статистично результати опрацювали, застосувавши програму SPSS 29.0.

Результати. Протягом 2 років спостереження рентгенологічне прогресування за критеріями OMERACT 4 визначено у 104 (63,8 %) хворих: у 97 (59,5 %) хворих – за сумарною модифікованою шкалою Шарпа-ван дер Хейде (SHS); у 53 (32,5 %) – за шкалою ерозій; у 99 (60,7 %) осіб – за шкалою звужень суглобових щілин. Динаміка середніх значень загальної шкали SHS та її складових, зокрема ерозивної та шкали звужень, становила $11,50 \pm 14,20$ ($p < 0,001$), $3,29 \pm 5,86$ ($p < 0,01$) та $8,30 \pm 15,90$ бала ($p < 0,001$) відповідно.

Кількісний приріст рентгенологічних змін за загальною шкалою SHS за один рік у середньому становив 5,75 бала; рентгенологічну ремісію визначили у 41 (25,2 %) хворого. За результатами логістичного регресійного та ROC-аналізів, з ризиком прогресування суглобової деструкції при РА вірогідно асоціювалися титри АЦЦП (СР 0,06 [0,05; 0,09]) та РФ (СР 0,01 [0,002; 0,020]), а також загальне оцінювання пацієнтом свого стану за візуальною аналоговою шкалою (СР 0,15 [-0,02; 0,33]).

Висновки. На тлі ХМТ традиційними синтетичними засобами рентгенологічне прогресування захворювання спостерігали у 63,8 % хворих на РА. Лише кожен четвертий хворий досяг рентгенологічної ремісії. Незалежними предикторами прогресування суглобової деструкції у хворих на РА є вищі титри АЦЦП, РФ і вищі показники загального оцінювання пацієнтом свого стану за візуальною аналоговою шкалою на вихідному етапі.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 260-266

Predictors of radiological progression of rheumatoid arthritis while receiving conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs

O. B. Iaremenko, G. M. Mykytenko

The aim of the work is to study the predictors of rheumatoid arthritis (RA) radiological progression while using conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs (csDMARDs).

Materials and methods. 163 patients with RA who were prescribed csDMARD were included in the study. Most of them were female 141 (86.5 %); mean age was 50.1 ± 12.0 years, disease duration 37.5 ± 56.3 months. Rheumatoid factor (RF) was detected in 53.3 % of patients, and antibodies to cyclic citrullinated peptide (ACCP) – in 54.0 %. Logistic and linear regression were used to analyze independent risk factors for radiological progression of RA and results were expressed as odds ratio (OR). Statistical processing was carried out using SPSS 29.0 software.

Results. During 2 years of study, radiological progression according to the OMERACT 4 criteria was observed in 104 patients (63.8 %): in 97 patients (59.5 %) according to the total van der Heijde's Sharp score (SHS); 53 (32.5 %) – erosion scale; and 99 (60.7 %) – narrowing scale. The dynamics of the average values of the total SHS and its components (erosive and narrowing scales) were 11.50 ± 14.20 ($p < 0.001$), 3.29 ± 5.86 ($p < 0.01$) and 8.30 ± 15.90 ($p < 0.001$) respectively. The mean increase in total SHS was 5.75 per year, while 41 patients (25.2 %) had radiological remission. In multivariate and ROC analyses, higher titers of ACCP (OR 0.06 [0.05; 0.09])

and RF (OR 0.01 [0.002; 0.02]), as well as the patient's global assessment by visual analogue scale (OR 0.15 [-0.02; 0.33]) were independently associated with the risk of radiological progression of RA.

Conclusions. The radiological progression of RA is observed in 63.8 % of patients with undergoing csDMARDs therapy. Only one in four patients achieves radiological remission. Independent predictors of radiographic progression in patients with RA are higher titers of ACCP, RF and higher values of patient's global assessment by visual analogue scale at baseline.

Modern medical technology. 2024;16(4):260-266

Ревматоїдний артрит (РА) – хронічне системне запальне захворювання, що характеризується симетричним поліартритом переважно дрібних суглобів кистей і стоп [1]. Якщо таким пацієнтам своєчасно не призначено хворобомодифікуювальну терапію (ХМТ), у них можуть виникнути деструктивні зміни хрящової тканини та сформуватися кісткові ерозії, функціональні порушення [2].

Для запобігання інвалідизації хворих необхідне встановлення діагнозу РА на ранніх стадіях хвороби. Для цього в клінічній практиці широко використовують класифікаційні критерії Американської колегії ревматологів (ACR) та Європейської протиревматичної ліги (EULAR) [3]. Проте навіть на фоні однакового базисного лікування швидкість прогресування суглобових уражень у хворих на РА індивідуальна [4]. Перебіг хвороби може характеризуватися і повільним прогресуванням, і швидким утворенням кісткових дефектів і незворотних деформацій опорно-рухового апарату. На думку деяких дослідників, швидкість суглобової деструкції не завжди корелює з активністю хвороби на початку лікування [5,6]. У частини пацієнтів, незважаючи на досягнення клінічної ремісії, продовжуються руйнівні зміни в суглобах [7]. Вивчення предикторів рентгенологічного прогресування РА сприяло б оптимізованому вибору ХМТ для кожного хворого.

Нині чимало досліджень присвячено вивченню цих потенційних маркерів. Так, згідно з результатами S. Møller-Bisgaard et al., вагомими чинниками руйнування суглобів були вік і стать пацієнтів [4]. Згідно з даними іншого дослідження, серопозитивність за антитілами до циклічного цитрулінованого пептиду (АЦЦП) та ревматоїдним фактором (РФ) асоціювалася з рентгенологічним прогресуванням РА [8].

Крім того, важливе значення мав вихідний рівень С-реактивного білка (СРБ), але не швидкість зсідання еритроцитів (ШЗЕ). За спостереженнями T. Takeuchi et al. [9], не лише наявність серологічних маркерів, але й вихідні зміни на рентгенограмі (а саме шкалі ерозій) були значущими щодо наслідків перебігу хвороби. Крім того, обидва маркери запалення (ШЗЕ та СРБ) асоціювалися з суглобовою деструкцією.

Отже, результати різних досліджень є суперечливими і не надають вичерпних даних щодо прогнозування структурних змін у суглобах. Для вивчення предикторів рентгенологічного прогресування РА в українській популяції пацієнтів здійснили це дослідження.

Мета роботи

Вивчити предиктори рентгенологічного прогресування РА на тлі хворобомодифікуювальної терапії традиційними синтетичними засобами.

Матеріали і методи дослідження

Проаналізували дані 366 пацієнтів із РА, які перебували на стаціонарному лікуванні в ревматологічному відділенні Олександрівської клінічної лікарні м. Києва. Діагноз РА встановили, ґрунтуючись на класифікаційних критеріях EULAR/ACR 2010 [3].

Критерії залучення хворих до дослідження – достовірність діагнозу РА, вік пацієнтів на початку захворювання понад 18 років, припинення прийому базисних препаратів, призначених попередньо, не менше як за 3 місяці до початку дослідження, відсутність внутрішньосуглобових і внутрішньом'язових ін'єкцій пролонгованих глюкокортикоїдів (ГК) не менше ніж за місяць до початку дослідження. Не залучали хворих із психоемоційними розладами, алкоголізмом, вагітністю і лактацією у період дослідження, з тяжкими захворюваннями печінки, нирок, легенів та інших органів, що могли суттєво вплинути на фармакодинаміку препаратів та ефективність лікування, а також пацієнтів, яким не здійснили повторне рентгенологічне обстеження через 2 роки лікування для оцінювання перебігу хвороби. Відтак до дослідження залучені 163 пацієнти.

Тривалість спостереження становила 2 роки. Активність РА оцінювали через 6, 12, 18 і 24 місяці лікування. На кожному з етапів дослідження визначали кількість болючих, набряклих суглобів; здійснювали загальне оцінювання рівня болю (ЗОБ), самооцінювання стану пацієнтом (ЗОП), оцінювання стану лікарем (ЗОЛ) за візуальною аналоговою шкалою (ВАШ); визначали рівень ШЗЕ та СРБ, а також активність хвороби за інтегральною шкалою DAS28 (ШЗЕ). Базисне лікування передбачало призначення одного з таких варіантів терапії: метотрексат (МТ) 7,5–20,0 мг/тиждень, у середньому – 14,20 ± 1,03 мг/тиждень, n = 52 (31,9 %); лефлуномід (ЛЕФ) 10–20 мг/добу, у середньому – 19,60 ± 0,44 мг/добу, n = 25 (15,3 %); сульфасалазин (СС) 2 г/добу, n = 23 (14,1 %); гідроксихлорохін (ГХ) у дозі 200–400 мг/д у комбінації з іншими препаратами; комбіновану ХМТ (МТ + СС, МТ + ГХ, МТ + ЛЕФ, ЛЕФ + ГХ, ЛЕФ + СС) одержували 63 (38,6 %) особи. До призначення цих базисних препаратів 115 (70,5 %) хворих не отримували ХМТ; у решти пацієнтів ХМТ (передусім МТ) скасували через побічні дії за 3 місяці до залучення до дослідження. ГК призначали за стандартними показаннями у початкових дозах від 2,5 мг/добу до 30,0 мг/добу в перерахунок на пероральний преднізолон, надалі дозу зменшували аж до скасування.

Титр РФ визначали методом латекс-аглютинації (Humateх, Німеччина). Референтні значення становили <20 IU/ml. Титр АЦЦП у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу («iEMS» Lab System, Фінляндія) з використанням

набору фірми IBL-Hamburg (Німеччина). Діагностична межа анти-ЦЦП становила ≥ 15 U/ml, максимальне значення – ≥ 345 U/ml.

Рентгенологічні зміни в суглобах кистей і стоп до початку дослідження та через 2 роки спостереження оцінювали шляхом кількісного обрахунку (виражали в балах) за модифікованою шкалою Шарпа–ван дер Хейде (SHS) [10]. Через 2 роки лікування встановили динаміку рентгенологічних даних у 163 хворих. Як рентгенологічне прогресування, згідно з рекомендаціями Комітету з проведення клінічних досліджень OMERACT 4, визначали рентгенологічні зміни щонайменше на 3,2, 2,9 та 3,4 бала відповідно за ерозивною шкалою звужень і загальною рентгенологічною шкалою [5]. Рентгенологічну ремісію визначали, якщо через 2 роки не виявляли структурних змін.

Оцінювання змін на рентгенограмах на вихідному етапі та через 2 роки дослідження здійснювали троє лікарів-ревматологів. До аналізу брали середній показник.

Дослідження здійснили відповідно до етичних принципів Гельсінської декларації та рекомендацій щодо належної клінічної практики; його було схвалено відповідними інституційними комісіями з нагляду.

Статистично дані опрацювали, використавши статистичну програму SPSS 29.0. Кількісні показники наведено як середнє арифметичне та його стандартне квадратичне відхилення ($M \pm \sigma$); категоріальні показники – як частоти та відсотки ($n, \%$). Достовірність розбіжностей середніх величин оцінювали, застосовуючи непараметричний критерій Манна–Вітні для кількісних ознак та критерій χ^2 , зокрема з поправкою Єйтса, для частотних показників.

Взаємозв'язок між прогресуванням РА та потенційними предикторами вивчали за допомогою методу бінарної логістичної регресії з розрахунком співвідношення ризиків (СР) та 95 % довірчого інтервалу (95 % ДІ). Для виявлення незалежних прогностичних маркерів, що впливають на рентгенологічне прогресування РА, використали метод покрокового логістичного регресійного аналізу багатофакторних моделей. Крім того, аналізували вплив вихідних характеристик пацієнтів на динаміку рентгенологічних змін за шкалою SHS з використанням одно- та багатофакторного лінійного регресійного аналізу. До анамнестичних, клініко-демографічних, лабораторних та інструментальних факторів ризику включали стать, вік хворих, тривалість РА, попередній прийом інших ХМП, активність хвороби за DAS28 (ШЗЕ), вихідні рентгенологічні зміни за SHS, позитивність за РФ та АЦЦП, титри РФ та АЦЦП, ЗОП стану за ВАШ, початкову дозу ГК. Аналіз якості регресійної моделі, оцінювання її чутливості та специфічності здійснили шляхом Receiver Operator Characteristic (ROC) аналізу з визначенням площі під ROC-кривою. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Результати

3-поміж 163 залучених до дослідження хворих переважали жінки – 141 (86,5 %). Вік пацієнтів становив від 18 до 70 років (у середньому $50,1 \pm 12,0$ року), тривалість хвороби – $37,5 \pm 56,3$ місяця (від 1 до 360 місяців). Ранній РА

(≤ 2 роки) визначили в 60,7 % випадків (99 хворих); 53,3 % осіб серопозитивні за РФ, 54,0 % – за АЦЦП. Майже у половині хворих зареєстровано позасуглобові прояви РА, переважно ревматоїдні вузлики та лімфаденопатії.

У всіх хворих до початку небіологічної ХМТ оцінювали показники суглобового статусу, рівні ШЗЕ, СРБ, РФ, АЦЦП та рентгенологічні зміни в суглобах кистей і стоп. У 158 хворих на вихідному етапі визначили такі зміни за SHS-шкалою: наявність ерозій – у 72 (44,2 %), звуження суглобових щілин – у 157 (96,3 %) пацієнтів. У решти 5 хворих візуальних змін на рентгенограмах суглобів кистей і стоп не виявили.

У таблиці 1 наведена загальна характеристика залучених до дослідження хворих.

Проаналізували прогресування РА за окремими складовими шкали SHS, оскільки ерозивна шкала описує ураження передусім кісткової тканини, а шкала звужень – хрящової. На початку дослідження у 44,2 % пацієнтів визначили структурні ерозивні суглобові зміни, через 2 роки їхня кількість зросла до 62,6 % (приріст – 18,4 %, $p < 0,01$), а у хворих, які мали звуження суглобових щілин на вихідному етапі, цей показник збільшився менш істотно – на 3,1 % (з 96,3 % до 99,4 %, $p < 0,05$) (табл. 2). Як приклад наведемо динаміку рентгенологічних змін у суглобах стоп протягом 2 років у хворій Д. віком 64 роки, у котрій визначили прогресування кісткових ерозій на тлі лікування традиційними синтетичними засобами ХМТ (рис. 1 А, Б).

Рентгенологічне прогресування за критеріями мінімальної клінічно значущої різниці OMERACT 4 визначено у 104 (63,8 %) хворих: у 97 (59,5 %) пацієнтів – за сумарною шкалою SHS; у 53 (32,5 %) – за шкалою ерозій; у 99 (60,7 %) обстежених – за шкалою звужень суглобових щілин.

Динаміка середніх значень загальної шкали SHS та її складових, зокрема ерозивної та шкали звужень, становила $11,50 \pm 14,20$ бала ($p < 0,001$), $3,29 \pm 5,86$ бала ($p < 0,01$) та $8,30 \pm 15,9$ бала ($p < 0,001$) відповідно. Умовно (для порівняння з результатами інших досліджень) можна вважати, що кількісний приріст рентгенологічних змін за загальною шкалою SHS за один рік у середньому становив 5,75 бала.

Рентгенологічну ремісію визначили у 41 (25,2 %) хворого. Структурні суглобові зміни виявили і в решти 18 пацієнтів, проте вони не досягли критеріїв мінімальної клінічно значущої різниці OMERACT 4.

Для вивчення прогностичних факторів рентгенологічного прогресування РА використали і метод лінійного регресійного аналізу (як залежну змінну обрано динаміку кількості балів за сумарною шкалою SHS), і логістичну регресію (залежна змінна – є чи немає рентгенологічного прогресування).

Згідно з результатами лінійного регресійного аналізу, чинниками, що асоціювалися з вірогідним ризиком прогресування суглобової деструкції при РА, виявились титри АЦЦП (СР 0,06, ДІ 0,05–0,09, $p < 0,001$) та РФ (СР 0,01, ДІ 0,002–0,020, $p < 0,01$). Встановили тенденцію до значущого впливу на рентгенологічне прогресування РА таких чинників, як давність захворювання (СР 0,03, ДІ -0,07–0,002, $p = 0,06$) та ЗОП за ВАШ (СР 0,15, ДІ -0,02–0,33, $p = 0,08$).

За результатами логістичного багатофакторного регресійного аналізу, вагомими чинниками рентгенологічного

Таблиця 1. Демографічна та клінічна характеристика хворих на РА, залучених до дослідження

Показник, одиниці вимірювання	Значення, $M \pm \sigma$	Діапазон коливань показника (x max – x min)
Вік, роки	50,1 ± 12,0	18–70
Жіноча стать, n (%)	141 (86,5)	–
Тривалість хвороби, міс.	37,5 ± 56,3	1–360
Кількість болючих суглобів	15,80 ± 7,36	2–28
Кількість набряклих суглобів	9,35 ± 6,25	0–28
ЗОБ за ВАШ, мм	58,1 ± 14,5	5–100
ЗОП за ВАШ, мм	57,7 ± 12,4	5–95
ЗОЛ за ВАШ, мм	56,7 ± 12,7	10–100
ШЗЕ, мм/год	30,6 ± 15,7	4–67
Не приймали раніше ХМТ, n (%)	115 (70,5)	–
РФ-позитивні, n (%)	87 (53,3)	–
АЦЦП-позитивні, n (%)	88 (54,0)	–
Титр РФ, IU/ml	74,7 ± 102,5	–
Титр АЦЦП, U/ml	115,8 ± 127,5	0–371
DAS28 (ШЗЕ)	6,04 ± 1,08	3–8
Наявність позасуглобових проявів, n (%)	94 (57,6)	–
Наявність супутньої патології, n (%)	94 (57,6)	–
Наявність змін за шкалою SHS, n (%)	157 (96,3)	–
Ерозивна шкала, бали	3,87 ± 8,21	0–66
Шкала звужень, бали	27,4 ± 18,7	0–104
Загальна шкала SHS, бали	31,3 ± 23,6	0–124
МТ, n (%)	52 (31,9)	–
ЛЕФ, n (%)	25 (15,3)	–
СС, n (%)	23 (14,1)	–
КБТ, n (%)	63 (38,6)	–
Монотерапія, n (%)	100 (61,4)	–
Початкова доза ГК, мг	10,1 ± 9,57	0–54

Таблиця 2. Зміни рентгенологічної шкали SHS через 2 роки лікування

Показник, одиниці вимірювання	Вихідний етап	Через 2 роки лікування	Динаміка	χ^2	p
Наявність ерозій, n (%)	72 (44,2 %)	102 (62,6 %)	18,1 %	11,1	<0,01
Наявність звуження суглобових щілин, n	157 (96,3 %)	162 (99,4 %)	3,1 %	5,25	<0,05
Рентгенологічне прогресування за ерозивною шкалою, n (%)	–	53 (32,5 %)	–	–	–
Рентгенологічне прогресування за шкалою звужень суглобових щілин, n (%)	–	99 (60,7 %)	–	–	–
Рентгенологічне прогресування за загальною шкалою SHS, n (%)	–	97 (59,5 %)	–	–	–
Ерозивна шкала, бали ($M \pm \sigma$)	3,87 ± 8,21	7,17 ± 10,30	3,29 ± 5,86	–	<0,01
Шкала звужень суглобових щілин, бали ($M \pm \sigma$)	27,4 ± 18,7	35,7 ± 19,9	8,30 ± 15,9	–	<0,001
Загальна шкала SHS, бали ($M \pm \sigma$)	31,3 ± 23,6	42,8 ± 26,3	11,5 ± 14,2	–	<0,001

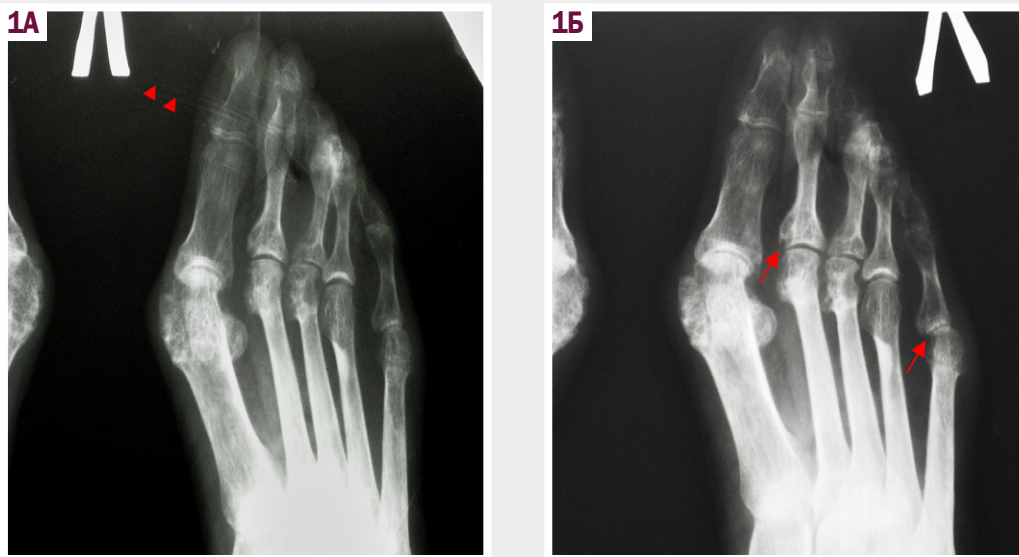


Рис. 1. Рентгенологічні зміни у суглобах стоп протягом 2 років у хворої Д, віком 64 роки на тлі лікування традиційними синтетичними засобами ХМТ. **А:** до початку ХМТ; **Б:** через 2 роки ХМТ. Стрілками позначено локалізацію кісткових ерозій, що прогресували протягом спостереження; додатково з'явився підвивих у п'ятому плеснефаланговому суглобі.

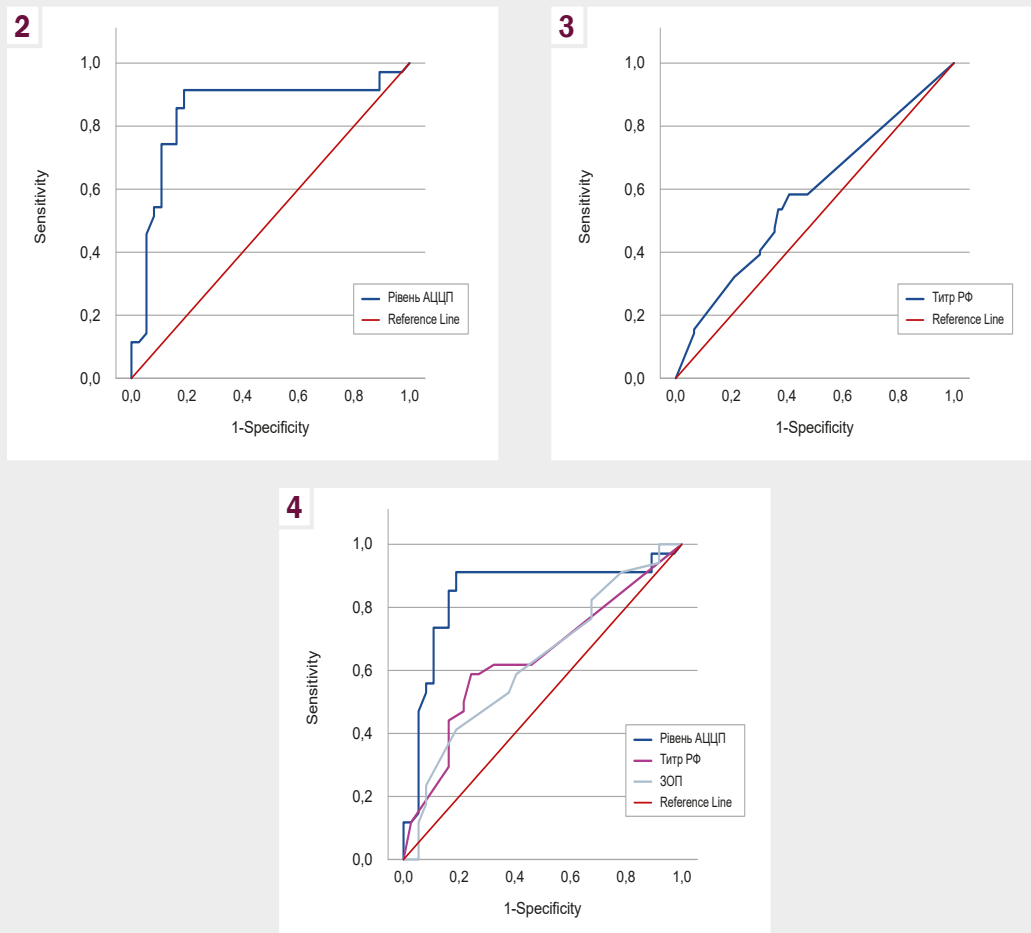


Рис. 2. ROC-крива залежності рентгенологічного прогресування РА від вихідного титру АЦЦП.

Рис. 3. ROC-крива залежності рентгенологічного прогресування РА від вихідного титру РФ.

Рис. 4. ROC-криві залежності рентгенологічного прогресування РА від потенційних прогностичних чинників.

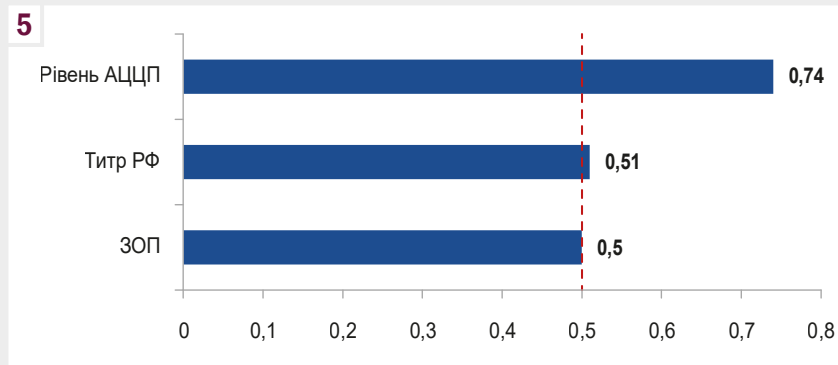


Рис. 5. Якість прогностичної моделі виявлених потенційних факторів рентгенологічного прогресування РА.

прогресування РА також були лише титри АЦЦП (СР 1,01, ДІ 1,000–1,017, $p = 0,004$) та РФ (СР 1,01, ДІ 1,000–1,004, $p = 0,04$).

У результаті ROC-аналізу встановили, що логістична регресійна модель, враховуючи титр АЦЦП, характеризувалася найкращою предикторною якістю (площа під ROC-кривою – 0,84 (0,74–0,94), чутливість – 91 %, специфічність – 82 %). Значущість титру РФ значно нижча (площа під ROC-кривою – 0,57 (0,49–0,66), чутливість – 58 %, специфічність – 60 %) (рис. 2, 3).

За результатами багатофакторного ROC-аналізу, крім титру АЦЦП (площа під ROC-кривою – 0,85 (0,74–0,94), $p < 0,001$), вагомими предикторами виявилися також титр РФ (площа під ROC-кривою – 0,64 (0,50–0,77), $p < 0,04$) та ЗОП за ВАШ (площа під ROC-кривою – 0,63 (0,49–0,75), $p < 0,05$) (рис. 4).

Прогностична модель потенційних чинників рентгенологічного прогресування РА відповідала критеріям якісної моделі (рис. 5).

Обговорення

Згідно з отриманими результатами, у більше ніж половини хворих (63,8 %) протягом 2 років на тлі лікування традиційними синтетичними засобами ХМТ спостерігали рентгенологічне прогресування РА. У дослідженні Т. Parikh et al. [2] нові деструктивні зміни на фоні традиційної хворобомодифікувальної терапії виявлено у 32,5 % пацієнтів. За результатами класичного дослідження ERAN (Early Rheumatoid Arthritis Network) [11], відсоток осіб зі щорічним приростом понад 5 балів за шкалою SHS становив 27 %. Поясненням відмінностей між результатами досліджень можуть бути різні критерії залучення, зокрема різна частка осіб з раннім РА. Так, у нашій роботі 60,7 % хворих мали тривалість захворювання менше ніж 2 роки, а в названих дослідженнях кількість хворих із раннім РА досягала 100,0 % [2, 11]. На вихідному етапі 44,2 % хворих, які залучені до цього дослідження, мали ерозивні деструктивні зміни, що зумовлено значною часткою пацієнтів (третина) з пізнім РА. Цей показник зріс на 18,4 % через 2 роки лікування. Приріст за шкалою звужень менш виражений (3,1 %), проте достовірний.

Для кількісного оцінювання рентгенологічного прогресування РА в більшості клінічних досліджень оцінюють щорічний приріст суглобових змін (Δ TSS) за загальною шкалою SHS. Згідно з отриманими результатами, Δ TSS становив апроксимовано 5,75 бала за рік. Це не суперечить результатам інших досліджень, де цей показник становив від 2,5 до 6,9 одиниць [2, 11], і залежить від критеріїв залучення й термінів виконання повторної рентгенографії (через 6 місяців, 1 чи 2 роки).

Вихідні зміни на рентгенограмах, згідно з даними окремих публікацій, є визначальними щодо подальшого прогресування РА [2, 12]. Однак під час нашого дослідження такого впливу не виявлено, що, ймовірно, пов'язано з різною тривалістю хвороби у залучених до дослідження пацієнтів.

Klooster T. P. et al. [5], вивчивши зв'язок між активністю захворювання та швидкістю рентгенологічного прогресування, дійшли висновку, що вихідне значення DAS28 (ШЗЕ) не корелює з виявленими змінами на рентгенограмах кистей і стоп через 1 та 2 роки лікування. Ці дані збігаються з результатами нашого дослідження: й інтегральна шкала активності РА DAS28 (ШЗЕ), й окремі її компоненти (кількість болючих, набряклих суглобів, рівень ШЗЕ) не впливали на динаміку структурних змін.

Згідно з результатами регресійного аналізу, до незалежних чинників рентгенологічного прогресування РА належали титри АЦЦП і РФ. Ці дані зіставні з результатами інших досліджень. Наприклад, у праці D. Abdelhafiz et al. [8] високий титр АЦЦП разом із вихідними рентгенологічними змінами та рівнем СРБ асоціювався зі швидшим рентгенологічним прогресуванням РА. Власне факт серопозитивності за АЦЦП, за нашими спостереженнями, не належав до прогностично значущих чинників подальших рентгенологічних змін, але, згідно з раніше опублікованими даними, впливав на досягнення хворими клінічної ремісії та динаміку активності хвороби [13]. Щодо РФ, то позитивність за цим серологічним маркером є менш вагомою порівняно з АЦЦП, але спричиняла достовірно швидший розвиток деструктивних змін у суглобах. Зауважимо, що, незважаючи на статистично переконалівшу значущість титру АЦЦП як предиктора рентгенологічного прогресування РА, інші вагомими детермінантами, як-от титр РФ та ЗОП за ВАШ, зберігають своє клінічне значення, оскільки не більше ніж 2/3 хворих на РА є позитивними хоча б за одним із серологічних маркерів.

Висновки

1. У понад половини хворих на РА (63,8 %) на тлі лікування традиційними синтетичними засобами ХМТ протягом 2 років спостерігали рентгенологічне прогресування захворювання. Лише кожен четвертий хворий досяг рентгенологічної ремісії.

2. Прогресування суглобової деструкції у хворих на ревматоїдний артрит асоціюється з такими незалежними предикторами, як вищі титри АЦЦП, РФ і вищі показники загального оцінювання пацієнтом свого стану за візуальною аналоговою шкалою на вихідному етапі.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні предикторів швидкості рентгенологічного прогресування у разі застосування окремих традиційних синтетичних, біологічних і таргетних хворобомодифікувальних препаратів для їх диференційованого призначення залежно від вихідних характеристик конкретного хворого на ревматоїдний артрит. Крім того, практично значущими можуть бути дослідження щодо ймовірності поновлення рентгенологічного прогресування у хворих, які досягли рентгенологічної ремісії, після скасування хворобомодифікувального засобу.

Відомості про авторів:

Яременко О. Б., д-р мед. наук, професор, зав. каф. внутрішньої медицини № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2095-5819

Микитенко Г. М., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-3385-3080

Information about the authors:

Iaremenko O. B., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Internal Medicine 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Mykytenko G. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

References

- Eberhard A, Rydell E, Forslind K, Bergman S, Mandl T, Olofsson T, et al. Radiographic damage in early rheumatoid arthritis is associated with increased disability but not with pain—a 5-year follow-up study. *Arthritis Res Ther.* 2023;25(1):29. doi: [10.1186/s13075-023-03015-9](https://doi.org/10.1186/s13075-023-03015-9)
- Parikh T, Yadav S, Balakrishnan C. Radiological Progression and Predictors of Radiological Progression in Early Rheumatoid Arthritis Treated with Conventional Synthetic Disease-modifying Agents. *Indian Journal of Rheumatology.* 2024;19(1):11-8. doi: [10.1177/09733698241229936](https://doi.org/10.1177/09733698241229936)
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum.* 2010; 62(9):2569-81. doi: [10.1002/art.27584](https://doi.org/10.1002/art.27584)
- Møller-Bisgaard S, Hørslev-Petersen K, Ørnbjerg LM, Ejbjerg B, Hetland ML, Møller JM, et al. Long-term efficacy of a 2-year MRI treat-to-target strategy on disease activity and radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis in clinical remission: 5-year follow-up of the IMAGINE-RA randomised trial. *RMD Open.* 2024;10(1):e003945. doi: [10.1136/rmdopen-2023-003945](https://doi.org/10.1136/rmdopen-2023-003945)
- Klooster TP, Versteeg LG, Oude Voshaar MA, de la Torre I, De Leonardis F, Fakhouri W, et al. Radiographic progression can still occur in individual patients with low or moderate disease activity in the current treat-to-target paradigm: real-world data from the Dutch Rheumatoid Arthritis Monitoring (DREAM) registry. *Arthritis Res Ther.* 2019;21(1):237. doi: [10.1186/s13075-019-2030-8](https://doi.org/10.1186/s13075-019-2030-8)
- Park Y, Li ML, Kim JW, Koh JH, Park YJ, Kim WU. Time-integrated Cumulative Parameters Predictive of Radiographic Progression of Rheumatoid Arthritis: Real-world Data From a Prospective Single-center Cohort. *J Rheum Dis.* 2022;29(2):98-107. doi: [10.4078/jrd.2022.29.2.98](https://doi.org/10.4078/jrd.2022.29.2.98)
- Møller-Bisgaard S, Georgiades S, Hørslev-Petersen K, Ejbjerg B, Hetland ML, Ørnbjerg LM, et al. Predictors of joint damage progression and stringent remission in patients with established rheumatoid arthritis in clinical remission. *Rheumatology (Oxford).* 2021;60(1):380-91. doi: [10.1093/rheumatology/keaa496](https://doi.org/10.1093/rheumatology/keaa496)
- Abdelhafiz D, Baker T, Glasgow DA, Abdelhafiz A. Biomarkers for the diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis – a systematic review. *Postgrad Med.* 2023;135(3):214-23. doi: [10.1080/00325481.2022.2052626](https://doi.org/10.1080/00325481.2022.2052626)
- Takeuchi T, Soen S, Ishiguro N, Yamanaka H, Tanaka S, Kobayashi M, et al. Predictors of new bone erosion in rheumatoid arthritis patients receiving conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs: Analysis of data from the DRIVE and DESIRABLE studies. *Mod Rheumatol.* 2021;31(1):34-41. doi: [10.1080/14397595.2019.1703484](https://doi.org/10.1080/14397595.2019.1703484)
- van der Heijde DM. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J Rheumatol.* 2000;27(1):261-3.
- Carpenter L, Norton S, Nikiphorou E, Jayakumar K, McWilliams DF, Rennie KL, et al. Early Rheumatoid Arthritis Study and the Early Rheumatoid Arthritis Network. Reductions in Radiographic Progression in Early Rheumatoid Arthritis Over Twenty-Five Years: Changing Contribution From Rheumatoid Factor in Two Multicenter UK Inception Cohorts. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017;69(12):1809-17. doi: [10.1002/acr.23217](https://doi.org/10.1002/acr.23217)
- Versteeg GA, Steunebrink L, Vonkeman HE, Ten Klooster PM, Van Der Bijl AE, Van De Laar M. Early radiological progression remains associated with long-term joint damage in real-world rheumatoid arthritis patients treated to the target of remission. *Scand J Rheumatol.* 2022;51(2):87-96. doi: [10.1080/03009742.2021.1917161](https://doi.org/10.1080/03009742.2021.1917161)
- Iaremenko O, Mykytenko G. Achievement of clinical remission in patients with rheumatoid arthritis depending on the ACCP- and RF-serological status. *Georgian Med News.* 2021;(318):99-104.

Використання інтраопераційних люмінесцентних методів виявлення уражених лімфатичних вузлів у пацієнтів з ускладненими формами раку ободової кишки

М. А. Кубрак ¹, С. М. Завгородній ¹, М. Б. Данилюк ¹, А. І. Рилов ²

¹Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна, ²КНП «Міська лікарня екстреної та швидкої медичної допомоги» ЗМР, м. Запоріжжя, Україна

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

Ключові слова:

колоректальний рак, діагностика, ускладнення, фотолюмінесцентне дослідження, флуоресцеїн, лімфатичні вузли, лімфографія.

Keywords:

colorectal cancer, diagnosis, complications, photoluminescence examination, fluorescein, lymph nodes, lymphography.

Надійшла до редакції / Received: 26.06.2024

Після доопрацювання / Revised: 19.07.2024

Схвалено до друку / Accepted: 29.07.2024

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

*E-mail:

braviorio@gmail.com

Залишається дискусійним питання щодо обсягу лімфатичної дисекції у пацієнтів з ускладненими формами раку товстого кишківника та можливості використання методів інтраопераційної візуалізації уражених лімфовузлів.

Мета роботи – проаналізувати результати використання інтраопераційного люмінесцентного методу виявлення уражених лімфатичних вузлів у пацієнтів з ускладненими формами злоякісних захворювань товстого кишківника.

Матеріали і методи. До групи дослідження залучено 109 (100 %) пацієнтів з ускладненими формами раку ободової кишки. У структурі за статтю переважали жінки – 57 (52,29 %), чоловіків було 52 (47,71 %). Середній вік хворих становив 69,78 ± 16,37 року. Контрастування регіональних лімфатичних вузлів здійснили, використавши 10 % розчин флуоресцеїну натрію.

Результати. За результатами флуоресцентного дослідження, у 67 (61,47 %) хворих візуалізовано лімфатичні вузли в регіональній зоні лімфатичного відтоку: у 39 (58,21 %) випадках візуалізовані лімфатичні вузли знаходилися в зоні епі- та параколичних вузлів (лімфодисекція D1), у 23 (34,33 %) пацієнтів – в зоні мезоколичних лімфовузлів (лімфодисекція D2), у 5 (7,46 %) – в зоні апікальних лімфовузлів (3 рівень лімфовідтоку). Загалом у 109 пацієнтів виявлено 268 лімфатичних вузлів, у середньому – 2,46 лімфовузла на одного пацієнта. Ці вузли промарковані та направлені на гістологічне дослідження окремо від основного препарату. Загалом здійснили патогістологічне дослідження 1436 лімфатичних вузлів із регіональної зони лімфовідтоку від онкопроцесу товстого кишківника, у середньому – 13,17 лімфовузла на одного хворого.

Висновки. Використання 10 % розчину флуоресцеїну натрію як препарату для фотолюмінесцентного дослідження дало змогу візуалізувати у 67 (61,47 %) хворих лімфатичні вузли в регіональній для пухлини зоні лімфатичного відтоку. Застосування фотолюмінесценції дало змогу визначити оптимальний обсяг лімфатичної дисекції без необґрунтованого його розширення під час оперативних втручань із приводу ускладнених форм раку ободової кишки. Чутливість і специфічність фотолюмінесцентного методу виявлення уражених лімфатичних вузлів за допомогою 10 % розчину флуоресцеїну натрію мали досить високі рівні, становили 72,41 % і 93,28 % відповідно.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 267-272

Use of intraoperative luminescent methods for detecting affected lymph nodes in patients with complicated forms of colon cancer

M. A. Kubrak, S. M. Zavhorodnii, M. B. Danyliuk, A. I. Rylov

The issue of the volume of lymphatic dissection in patients with complicated forms of colon cancer and the possibility of using methods of intraoperative visualisation of the affected lymph nodes remains controversial.

The aim of the study – to analyse the results of using the intraoperative luminescent method of detecting affected lymph nodes in patients with complicated forms of malignant diseases of the large intestine.

Materials and methods. The study group included 109 patients with complicated forms of colon cancer. In the gender structure, female patients predominated – 57 (52.29 %), there were 52 (47.71 %) men. The average age of the patients was 69.78 ± 16.37 years. Contrasting of regional lymph nodes was carried out using a 10 % sodium fluorescein solution.

Results. According to the results of the fluorescence examination, in 67 (61.47 %) patients, lymph nodes were visualized in the regional lymphatic outflow: in 39 (58.21 %) cases, the visualized lymph nodes were located in the area of epi- and paracolic nodes (lymphodissection D1), in 23 (34.33 %) of patients – in the zone of mesocolic lymph nodes (lymphodissection D2) and in 5 (7.46 %) – in the zone of apical lymph nodes (3rd level

of lymph drainage). A total of 268 lymph nodes were detected in 109 patients, which was an average of 2.46 lymph nodes per 1 patient. These nodes were marked and sent for histological examination separately from the main preparation. In total, a pathohistological examination of 1436 lymph nodes from the regional zone of lymph drainage from colon cancer was carried out, which was an average of 13.17 lymph nodes per 1 patient.

Conclusions. The use of a 10 % solution of sodium fluorescein as a preparation for photoluminescence examination made it possible to visualize lymph nodes in the regional lymphatic outflow zone for the tumor in 67 (61.47 %) patients. The use of photoluminescence made it possible to determine the optimal volumes of lymphatic dissection without unjustified expansion in the case of surgical interventions for complicated forms of colon cancer. The levels of sensitivity and specificity of the photoluminescent method of detecting affected lymph nodes using a 10 % solution of sodium fluorescein had quite high results and amounted to 72.41 % and 93.28 %, respectively.

Modern medical technology. 2024;16(4):267-272

Злоякісна патологія ободової кишки посідає 4 місце у жінок та 3 місце в чоловіків у структурі онкозахворювань України та світу загалом [1]. Понад 50,0 % таких пацієнтів оперують в умовах загальнохірургічних стаціонарів, оскільки в них виникають ускладнення онкопатології товстого кишківника [2].

Якщо в пацієнта діагностують ускладнення, хірургічні втручання передусім мають на меті збереження життя хворого і не передбачають жодних принципів онкорадикальності: товсту кишку з пухлиною часто видаляють у мінімальному обсязі або взагалі не видаляють, не виконують лімфатичну дисекцію достатнього обсягу, не усувають солітарні метастази під час видалення тощо [3]. Як наслідок у 23,0–30,0 % пацієнтів неправильно оцінюють стадійність онкопроцесу, і це негативно впливає на результативність лікування хворих, їхній прогноз і показники виживаності [4].

Саме обсяг лімфатичної дисекції суттєво впливає на стадіювання онкопроцесу – від кількості уражених лімфатичних вузлів залежить показник pN. Цей показник прямо асоційований із загальною кількістю видалених лімфатичних вузлів під час оперативного втручання [5,6]. За даними багатьох авторів, під час ургентної операції видаляють недостатню кількість лімфовузлів (менше ніж 12). Це не дає змоги правильно оцінити показник pN [7]. Втім, згідно з висновками окремих дослідників, збільшення обсягу лімфатичної дисекції під час ургентних операцій призводить до підвищення рівнів періопераційних ускладнень і ранньої післяопераційної летальності, що є негативними показниками лікування цих хворих.

Отже, дискусійним залишається питання щодо обсягу лімфатичної дисекції у пацієнтів з ускладненими формами раку товстого кишківника та можливості використання методів інтраопераційної візуалізації уражених лімфовузлів, що дали б змогу оптимізувати рівні лімфодисекції без підвищення ризиків ускладнень та летальності для цих хворих.

Мета роботи

Проаналізувати результати використання інтраопераційного люмінесцентного методу виявлення уражених лімфатичних вузлів у пацієнтів з ускладненими формами злоякісних захворювань товстого кишківника.

Матеріали і методи дослідження

Проспективне когортне дослідження здійснили на базі хірургічних відділень КНП «Міська лікарня екстреної та швид-

кої медичної допомоги» ЗМР (м. Запоріжжя) та КНП «Міська лікарня № 7» ЗМР (м. Запоріжжя) у період з 2020 до 2023 року. До групи дослідження залучено 109 (100 %) пацієнтів з ускладненими формами раку ободової кишки. В структурі за статтю переважали жінки – 57 (52,29 %), чоловіків було 52 (47,71 %). Середній вік хворих становив $69,78 \pm 16,37$ року.

У передопераційному періоді всіх хворих обстежили відповідно до чинних протоколів діагностики та лікування ускладнених форм раку товстого кишківника. У всіх 109 (100 %) обстежених підтверджено злоякісний процес товстого кишківника, за результатами післяопераційного гістологічного дослідження. Пацієнти із групи дослідження прооперовані терміново (невідкладно чи ургентно) або у відстроченому періоді – після стабілізації вітальних функцій.

Структура онкопатології: пухлина сліпої кишки виявлена у 13 (11,93 %) пацієнтів, висхідної ободової кишки – у 12 (11,01 %), печінкового кута – у 8 (7,34 %), поперечної ободової кишки – у 4 (3,67 %), селезінкового кута – у 2 (1,83 %), низхідної ободової кишки – у 12 (11,01 %), сигмоподібної – у 43 (39,45 %), ректосигмоїдного відділу товстої кишки – у 13 (11,93 %) прооперованих.

Щодо ускладнень онкопроцесу товстого кишківника, то у 74 (67,89 %) хворих діагностовано пухлину товстого кишківника з гострою кишковою непрохідністю, у 21 (19,27 %) – із перфорацією пухлини, у 6 (5,50 %) пацієнтів виявлено гостру кишкову кровотечу, у 3 (2,75 %) – поєднання гострої кишкової непрохідності з перфорацією пухлини, ще у 5 (4,59 %) осіб – із кишковою кровотечею.

У структурі хірургічних операцій превалювали радикальні оперативні втручання – 79 (72,48 %) випадків. У 29 (36,71 %) пацієнтів виконана правобічна геміколектомія (у 3 (10,35 %) із них – із пангістеректомією у зв'язку з проростанням пухлини), 40 (50,63 %) – резекція лівих відділів товстого кишківника з пухлиною (у 4 (10,00 %) із них – з пангістеректомією, й у 1 (2,50 %) – зі спленектомією), у 10 (12,66 %) госпіталізованих – лівобічна геміколектомія.

У 22 (20,18 %) госпіталізованих виконані паліативні циторедуктивні операції: у 6 (27,27 %) – правобічна геміколектомія, у 12 (54,55 %) – резекція лівих відділів товстої кишки, у 4 (18,18 %) осіб – лівобічна геміколектомія.

У 8 (7,34 %) хворих виконали симптоматичні операції: 5 (62,50 %) випадків – цекостомія, 3 (37,50 %) – накладання обхідних тонко-товстокишкових анастомозів.

У всіх хворих, яким здійснили радикальне та паліативне циторедуктивне втручання, виконали лімфатичну дисекцію

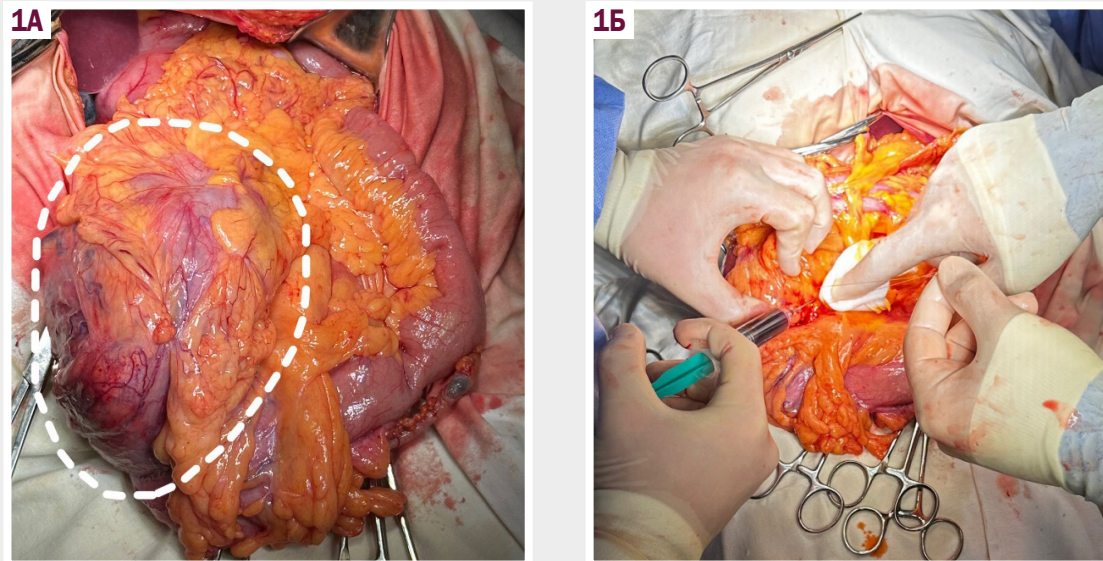


Рис. 1. Процес введення фотолюмінесцентного препарату в зону пухлини. **А:** ділянка злоякісного новоутворення товстого кишківника (маркована пунктирною лінією); **Б:** введення 10 % розчину флуоресцеїну натрію за допомогою шприца у субсерозний шар.

після контрастування регіональної лімфатичної системи фотолюмінесцентним препаратом. У пацієнтів, яким здійснили симптоматичні операції, виконали біопсію регіональних лімфатичних вузлів бріджі (епі- та параколічних), беручи до уваги результати фотолюмінесцентного дослідження.

Контрастування регіональних лімфатичних вузлів виконали, застосувавши фотолюмінесцентний препарат – 10 % розчин флуоресцеїну натрію. Цей лікарський засіб широко використовують в офтальмології, він добре зарекомендував себе як контрастна речовина для лімфографії [8] та під час візуалізації пухлин головного мозку [9]. Флуоресцеїн натрію доволі швидко виводиться з тканин через лімфатичну та венозну систему, зв'язуючись із білками (переважно альбуміном), при цьому контрастуючи регіональну для місця введення зону та частково затримуючись у лімфатичних вузлах. Під дією світла з довжиною хвилі від 465 нм до 490 нм (синій спектр світла) спостерігають жовто-зелену флуоресценцію з довжиною хвилі 520–530 нм, що добре помітна оком.

За допомогою шприца та голки G23 у субсерозний шар товстого кишківника в зону пухлини вводили 2,0–3,0 мл 10 % розчину флуоресцеїну натрію (рис. 1).

Як джерело світла використано LED-ліхтарик із довжиною хвилі фотоелемента 480 нм. Уже через 5 хвилин після введення препарату спостерігали поширення фотолюмінесцентного препарату з зони пухлини та регіональній зоні лімфовенозного відтоку (епі- та параколічних лімфатичних вузлів – зона лімфодисекції D1), рис. 2. Через 15 хвилин після введення препарату фотолюмінесценцію виявляли в зоні мезоколічних лімфовузлів (зона лімфодисекції D2), рис. 3.

Беручи до уваги дані інтраопераційної фотолюмінесценції, визначали оптимальний обсяг лімфатичної дисекції.

Якщо фотолюмінесценцію не спостерігали та не виявляли візуальні ознаки збільшених лімфатичних вузлів, виконували лімфодисекцію в межах епі- та параколічних лімфатичних вуз-

лів (D1) з біопсією мезоколічних вузлів, розташованих по ходу судинного пучка, який лігували. Якщо фотолюмінесценцію в лімфовузлах визначали чи були візуальні ознаки їх можливого ураження (збільшення розмірів, щільність, округлість, нерівномірність і зміна кольору), виконували лімфодисекцію в межах мезоколічних лімфатичних вузлів (D2).

Усі лімфатичні вузли, що виявили під час люмінесцентного дослідження, а також лімфовузли, які мали візуальні ознаки метастичного ураження, маркували та направляли для патогістологічного дослідження. Це дало змогу надалі оцінити чутливість і специфічність фотолюмінесцентного методу у пацієнтів з ускладненими формами раку ободової кишки.

Зауважимо, що фотолюмінесценція в зоні пухлини та лімфатичних вузлах почасти залишалася у видаленому препараті навіть через годину після введення 10 % флуоресцеїну натрію (рис. 4).

Усі процедури, що здійснили під час досліджень за участю людей, відповідали етичним стандартам інституційного дослідницького комітету Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, а також Гельсінської декларації 1964 року зі змінами, іншим етичним стандартам.

Статистично результати дослідження опрацювали за допомогою комп'ютерних програм Statistica 13.0, TIBCO Software Inc. (ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J) та Microsoft Excel 2013 (ліцензія 00331-10000-00001-AA404). Дані в тексті наведено як $M \pm m$ (середнє арифметичне \pm стандартне відхилення), абсолютні значення (n) та їхня відносна частка (%). Чутливість методу визначали за формулою: $Ч = IP / (IP + ХН)$, де $Ч$ – чутливість методу; IP – істинно позитивні результати; $ХН$ – хибно негативні результати. Специфічність методу оцінювали за формулою: $С = IH / (IH + ХП)$, де $С$ – специфічність методу; IH – істинно негативні результати; $ХП$ – хибно позитивні результати.

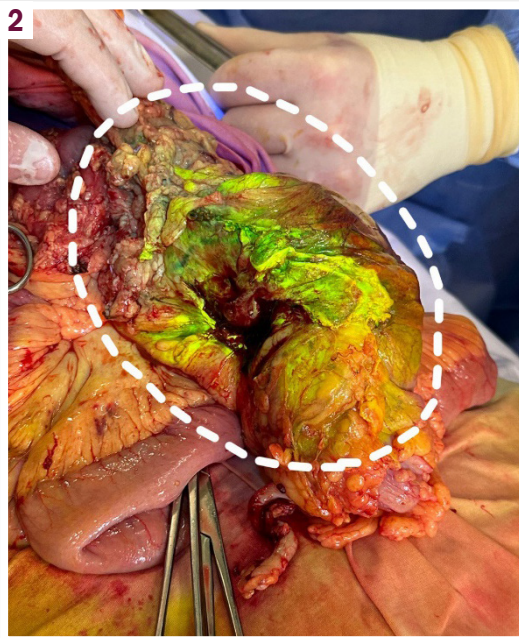


Рис. 2. Фотолюмінесценція 10 % флуоресцеїну натрію через 5 хвилин після введення в зоні епі- та параколичних лімфатичних вузлів – зона лімфодисекції D1 (маркована пунктирною лінією).

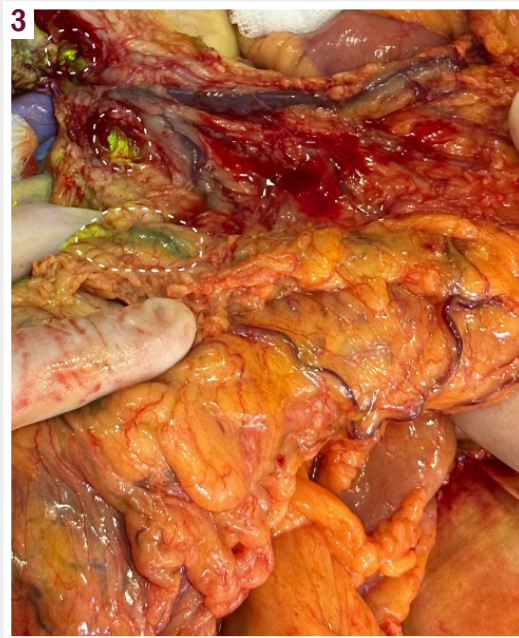


Рис. 3. Фотолюмінесценція 10 % флуоресцеїну натрію через 15 хвилин після введення в зоні мезоколичних лімфатичних вузлів – зона лімфодисекції D2 (лімфатичні вузли, що накопичили контраст, марковані пунктирною лінією).

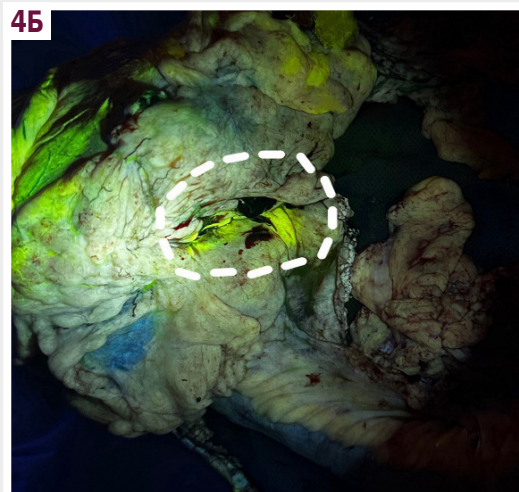


Рис. 4. Залишкова фотолюмінесценція у видаленому препараті кишківника з пухлиною через 1 годину після введення 10 % флуоресцеїну натрію. **А:** зовнішній вигляд видаленого препарату кишківника з пухлиною, великим чепцем і лімфатичними вузлами (*ad block*); **Б:** залишкова фотолюмінесценція в видаленому препараті через 1 годину після введення 10 % флуоресцеїну натрію (пунктиром позначена зона з маркованими мезоколичними лімфатичними вузлами, що накопичили контраст).

Результати

У групі дослідження не зафіксовано реакції алергічного характеру на введення 10 % розчину флуоресцеїну натрію в періопераційному періоді.

За результатами флуоресцентного дослідження, у 67 (61,47 %) хворих візуалізовано лімфатичні вузли в регіональній для пухлини зоні лімфатичного відтоку. У решти 42 (38,53 %) лімфовузлів не контрастували флуоресцентним пре-

паратом. 3-поміж 67 хворих, у яких спостерігали накопичення фотолюмінесцентного препарату в лімфатичних вузлах, у 39 (58,21 %) осіб візуалізовані лімфатичні вузли знаходилися в зоні епі- та параколичних вузлів (лімфодисекція D1), у 23 (34,33 %) – у зоні мезоколичних лімфовузлів (лімфодисекція D2), у 5 (7,46 %) прооперованих – у зоні апікальних лімфовузлів (3 рівень лімфовідтоку).

Враховуючи дані фотолюмінесценції, у 42 (38,53 %) прооперованих без чіткого контрастування лімфатичних вузлів

виконали лімфатичну дисекцію в межах 1 рівня лімфовідтоку (D1). У 8 (19,05 %) із цих пацієнтів здійснили біопсію мезоколічних лімфатичних вузлів (2 рівень), оскільки візуально в них виявили збільшені лімфовузли з ознаками можливого метастазування.

У 62 (56,88 %) пацієнтів, у котрих спостерігали люмінесценцію в зонах епі-, пара- чи мезоколічних лімфовузлів, виконали лімфодисекцію в межах колекторів 2 рівня лімфовідтоку (лімфодисекція D2). У 5 (4,59 %) хворих додатково до лімфатичної дисекції рівня D2 здійснили біопсію візуалізованих за допомогою фотолюмінесценції апікальних лімфовузлів.

За даними фотолюмінесцентного дослідження, у 109 пацієнтів виявлено 268 лімфатичних вузлів, у середньому – 2,46 лімфовузла на одного пацієнта. Ці вузли промарковані та направлені на гістологічне дослідження окремо від основного препарату. Загалом здійснили патогістологічне дослідження 1436 лімфатичних вузлів із регіональної зони лімфовідтоку від онкопроцесу товстого кишківника, у середньому – 13,17 лімфовузла на одного хворого.

Серед 268 (18,66 %) лімфатичних вузлів, що візуалізовані під час флуоресцентного обстеження, у 189 (70,52 %) виявлено метастатичне ураження (ІП), у 79 (29,48 %) – реактивні запальні зміни без ознак метастазування пухлини (ХП). Серед 1168 (81,34 %) лімфовузлів, в яких не виявлено накопичення фотолюмінофору, метастатичне ураження визначили в 72 (6,16 %) лімфатичних вузлах (ХН), у 1096 (93,84 %) випадках метастази пухлини не виявлено (ІН).

Відповідно до стандартизованих формул, рівень чутливості (С) фотолюмінесцентного методу виявлення уражених лімфатичних вузлів за допомогою 10 % розчину флуоресцеїну натрію становив: $IP / (IP + XH) = 189 / (189 + 72) = 72,41 \%$; рівень специфічності (С): $IN / (IN + XH) = 1096 / (1096 + 79) = 93,28 \%$.

Обговорення

Інтраопераційна діагностика сигнальних та уражених лімфатичних вузлів – важливий компонент сучасної онкохірургії злоякісних захворювань. Цей метод широко використовують під час оперативного лікування пухлин різної локалізації, зокрема молочної залози, шкіри, головного мозку, товстого кишківника, органів таза тощо [10,11]. Як індикатори використовують низку засобів: флуоресцентні розчини лімфазурину, флуоресцеїну, індоціаніну зеленого, нанокристали CdSe1 – xTex, радіоізотопи технецію, цезію та багато інших [12]. Усі вони мають доведену ефективність для інтраопераційної діагностики сигнальних та уражених лімфовузлів. Разом із тим, більшість із них мають певні особливості використання, а також потребують дороговартісного обладнання для виявлення цих препаратів у лімфовузлах під час операції [13]. Ці чинники призводять до того, що методи інтраопераційного виявлення уражених лімфовузлів досі не набули поширення в онкохірургії, і тим більше в ургентній хірургії ускладнених форм раку [14]. Тому досить важливим є використання оптимальних не лише за чутливістю та специфічністю, але й за ціною та необхідністю застосування додаткових засобів для виявлення цих індикаторів під час оперативного втручання.

Наведені факти обґрунтовують перспективність використання як фотолюмінесценту 10 % розчину флуоресцеїну в ургентній онкохірургії [15]. Цей засіб доволі дешевий порівняно з іншими індикаторами, не потребує використання специфічного дороговартісного обладнання для виявлення люмінесценції, адже під дією світла з довжиною хвилі від 465 нм до 490 нм (LED-діод із синім спектром світла) спостерігають жовто-зелену флуоресценцію з довжиною хвилі 520–530 нм, що добре помітна оком; це дає змогу відстежувати поширення контрасту в динаміці. Крім того, фотолюмінесцент у лімфатичних вузлах виявляють уже через 15 хвилин після введення, а отже не збільшується тривалість ургентного втручання внаслідок застосування додаткових методів.

Adrian G. Dan et al. [16] дослідили ефективність використання 10 % розчину флуоресцеїну порівняно з 1 % розчином лімфазурину. Науковці довели ефективність використання флуоресцеїну для виявлення уражених лімфатичних вузлів метастазами колоректального раку. За їхніми даними, чутливість методу діагностування становила понад 97,0 %, специфічність – понад 93,0 %. Автори дійшли висновку, що, враховуючи достатню дешевизну розчину флуоресцеїну порівняно з лімфазурином, він є хорошою альтернативою в люмінесцентній діагностиці сигнальних лімфатичних вузлів у пацієнтів із колоректальним раком [16]. Подібні результати встановили під час нашого дослідження: чутливість методу становила 72,41 %, специфічність – 93,28 %.

Висновки

1. Використання 10 % розчину флуоресцеїну натрію як препарату для фотолюмінесцентного дослідження дало змогу візуалізувати у 67 (61,47 %) хворих лімфатичні вузли в регіональній для пухлини зоні лімфатичного відтоку.

2. Використання фотолюмінесценції дало змогу визначити оптимальний обсяг лімфатичної дисекції без необґрунтованого його розширення під час оперативних втручань із приводу ускладнених форм раку ободової кишки. Так, у 42 (38,53 %) прооперованих без чіткого контрастування лімфатичних вузлів виконали лімфатичну дисекцію в межах 1 рівня лімфовідтоку (D1), у 62 (56,88 %) хворих із люмінесценцією в зонах епі-, пара- чи мезоколічних лімфовузлів – лімфодисекцію в межах колекторів 2 рівня лімфовідтоку (D2), у 5 (4,59 %) пацієнтів додатково до лімфатичної дисекції рівня D2 здійснили біопсію візуалізованих за допомогою фотолюмінесценції апікальних лімфовузлів.

3. Чутливість і специфічність фотолюмінесцентного методу виявлення уражених лімфатичних вузлів за допомогою 10 % розчину флуоресцеїну натрію мали досить високі рівні, становили 72,41 % і 93,28 % відповідно.

Перспективи подальших досліджень. Використання люмінесцентних методів візуалізації уражених лімфатичних вузлів у пацієнтів з ускладненими формами колоректального раку в умовах загальнохірургічного стаціонара дасть змогу виконувати лімфатичні дисекції без необґрунтованого розширення обсягу оперативних втручань.

Фінансування

Дослідження здійснено в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету: «Модифікація хірургічних аспектів лікування пацієнтів різних вікових груп у мирний та військовий час», державний реєстраційний № 0122U201230 (2022–2026 рр.).

Відомості про авторів:

Кубрак М. А., д-р філософії (PhD), доцент каф. загальної хірургії та післядипломної хірургічної освіти, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-4051-9336

Завгородній С. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. загальної хірургії та післядипломної хірургічної освіти, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3082-3406

Данилюк М. Б., канд. мед. наук, доцент каф. загальної хірургії та післядипломної хірургічної освіти, Навчально-науковий інститут післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-4515-7522

Рилов А. І., канд. мед. наук, доцент, зав. хірургічного відділення, КНП «Міська лікарня екстреної та швидкої медичної допомоги» ЗМП, м. Запоріжжя, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-0515-2495

Information about the authors:

Kubrak M. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Surgery and Postgraduate Surgical Education, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Zavhorodnii S. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Surgery and Postgraduate Surgical Education, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Danyliuk M. B., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Surgery and Postgraduate Surgical Education, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Rylov A. I., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Surgical Department, Municipal Non-Profit Enterprise "City Hospital of Emergency and Ambulance" of Zaporizhzhia City Council, Ukraine.

References

1. Ukrainian cancer registry statistics. [Cancer in Ukraine, 2018-2019. Occupation, death, demonstration of oncological service]. Bulletin of National Cancer Registry of Ukraine. 2020;21. Ukrainian. Available from: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_21/index.htm
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49. doi: 10.3322/caac.21660
3. Biondo S, Gálvez A, Ramírez E, Frago R, Kreisler E. Emergency surgery for obstructing and perforated colon cancer: patterns of recurrence and prognostic factors. *Tech Coloproctol.* 2019;23(12):1141-61. doi: 10.1007/s10151-019-02110-x
4. Chen K, Wang H, Collins G, Hollands E, Law IY, Toh JW. Current Perspectives on the Importance of Pathological Features in Prognostication and Guidance of Adjuvant Chemotherapy in Colon Cancer. *Curr Oncol.* 2022;29(3):1370-89. doi: 10.3390/curroncol29030116
5. Yang KM, Jeong MJ, Yoon KH, Jung YT, Kwak JY. Oncologic outcome of colon cancer with perforation and obstruction. *BMC Gastroenterol.* 2022;22(1):247. doi: 10.1186/s12876-022-02319-5
6. Li N, Lu B, Luo C, Cai J, Lu M, Zhang Y, et al. Incidence, mortality, survival, risk factor and screening of colorectal cancer: A comparison among China, Europe, and northern America. *Cancer Lett.* 2021;522:255-68. doi: 10.1016/j.canlet.2021.09.034
7. Kubrak MA, Zavhorodnii SM, Danyliuk MB. [Problems of staging complicated forms of colon carcinoma in patients operated on urgently in a general surgical hospital]. *Pathologia.* 2023;20(1):45-9. Ukrainian. doi: 10.14739/2310-1237.2023.1.273868
8. Baddam DO, Ragi SD, Tsang SH, Ngo WK. Ophthalmic fluorescein angiography. In: *Methods in Molecular Biology.* New York, NY: Springer US; 2023. p. 153-60. doi: 10.1007/978-1-0716-2651-1_15
9. Kerschbaumer J, Demetz M, Krigers A, Pinggera D, Spinello A, Thomé C, et al. Mind the gap—the use of sodium fluorescein for resection of brain metastases to improve the resection rate. *Acta Neurochir (Wien).* 2023;165(1):225-30. doi: 10.1007/s00701-022-05417-1
10. Ma S, Kim JH, Chen W, Li L, Lee J, Xue J, et al. Cancer Cell-Specific Fluorescent Prodrug Delivery Platforms. *Adv Sci (Weinh).* 2023;10(16):e2207768. doi: 10.1002/advs.202207768
11. Mieog JS, Achterberg FB, Zlitni A, Hutteman M, Burggraaf J, Swijnenburg RJ, et al. Fundamentals and developments in fluorescence-guided cancer surgery. *Nat Rev Clin Oncol.* 2022;19(1):9-22. doi: 10.1038/s41571-021-00548-3
12. Zhang Z, Du Y, Shi X, Wang K, Qu Q, Liang Q, et al. NIR-II light in clinical oncology: opportunities and challenges. *Nat Rev Clin Oncol.* 2024;21(6):449-67. doi: 10.1038/s41571-024-00892-0
13. Tazawa H, Shigeyasu K, Noma K, Kagawa S, Sakurai F, Mizuguchi H, et al. Tumor-targeted fluorescence labeling systems for cancer diagnosis and treatment. *Cancer Sci.* 2022;113(6):1919-29. doi: 10.1111/cas.15369
14. Fujita K, Urano Y. Activity-Based Fluorescence Diagnostics for Cancer. *Chem Rev.* 2024;124(7):4021-78. doi: 10.1021/acs.chemrev.3c00612
15. Zhang Y, Zhang G, Zeng Z, Pu K. Activatable molecular probes for fluorescence-guided surgery, endoscopy and tissue biopsy. *Chem Soc Rev.* 2022;51(2):566-93. doi: 10.1039/d1cs00525a
16. Dan AG, Saha S, Monson KM, Wiese D, Schochet E, Barber KR, et al. 1% lymphazurin vs 10% fluorescein for sentinel node mapping in colorectal tumors. *Arch Surg.* 2004;139(11):1180-4. doi: 10.1001/archsurg.139.11.1180

Клінічна ефективність комплексної диференційованої реабілітації пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями на тлі дегенеративно-дистрофічної патології грудного відділу хребта

О. Є. Алипова¹ *A,C,D,E,F, Є. І. Марамуха¹ B,C,D

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

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

Ключові слова:

дегенеративно-дистрофічна патологія хребта, торакалгія, кінезіотерапія, реабілітація, функціональний блок, хребцево-рухові сегменти, мануальна терапія.

Keywords:

degenerative-dystrophic pathology of the spine, thoracalgia, kinesiotherapy, rehabilitation, functional block, vertebral-motor segments, manual therapy.

Надійшла до редакції /
Received: 11.11.2024

Після доопрацювання /
Revised: 03.12.2024

Схвалено до друку /
Accepted: 10.12.2024

Конфлікт інтересів:
відсутній.

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

*E-mail:
elaly@ukr.net

Мета роботи – визначити ефективність застосування комплексної диференційованої реабілітації у пацієнтів із дегенеративно-дистрофічною патологією грудного відділу хребта (ДДПХ) та торакалгічним синдромом залежно від показників вертебродинаміки.

Матеріали і методи. Реабілітаційних заходів вжили у 124 пацієнтів із ДДПХ, що ускладнена синдромом торакалгії, на післягострому етапі реабілітації. Вік пацієнтів становив від 18 до 54 років. До дослідження залучили 51 (41,2 %) жінку та 73 (58,8 %) чоловіків. Тривалість захворювання становила від 2 до 23 років. Здійснили реабілітаційне обстеження з оцінюванням показників порушень вертебродинаміки за методом А. Stoddard. У всіх пацієнтів виявлено функціональний блок (ФБ) 2 ступеня в хребцево-рухових сегментах (ХРС) грудного відділу хребта. Пацієнтів поділено на 2 групи, зіставні за віком і тяжкістю захворювання. Хворі першої групи (n = 56) отримували базовий комплекс реабілітації: масаж, персоналізовані комплекси терапевтичних вправ, фізичні методи лікування (магнітотерапія, ультразвукова терапія) на тлі медикаментозного лікування (нестероїдні протизапальні засоби, міорелаксанти, анальгетики). Пацієнтам 2 групи (n = 68) додатково призначили сеанси постізометричної та постреципрокної релаксації м'язів, техніки мобілізації за К. Lewit, R. Maigne, В. Губенком, а також авторські методики кінезіотерапії залежно від показників вертебродинаміки. Цикл амбулаторної реабілітації становив 14 днів.

Результати. Розроблена комплексна схема обстеження хворих на основі неврологічного, мануального, інструментального досліджень, оцінювання больового синдрому, інсомнічних та афективних порушень дає змогу здійснювати ранню діагностику захворювання та динамічний нагляд у процесі лікування. Розроблена й апробована комплексна кінезіотерапевтична методика лікування, що передбачає мануальну терапію, сприяє швидшому регресу неврологічних симптомів, відновленню втраченого обсягу рухів у грудному відділі хребта, зменшенню больового синдрому та ризиків загострення ДДПХ, дає змогу скоротити терміни лікування і реабілітації пацієнтів, підвищити якість їхнього життя.

Висновки. Розроблена та досліджена комплексна диференційована реабілітація з використанням мануальної терапії підтвердила свою ефективність, тому її можна рекомендувати до застосування у клінічній, реабілітаційній практиці. Ця схема реабілітації пацієнтів із ДДПХ забезпечує значний економічний ефект під час лікування.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 273-283

Clinical effectiveness of complex differentiated rehabilitation of patients with vertebral thoracic pain due to degenerative-dystrophic pathology of the thoracic spine

O. Ye. Alypova, Ye. I. Maramukha

The aim of the study. To determine the effectiveness of complex differentiated rehabilitation in patients with degenerative-dystrophic pathology of the thoracic spine (DDPS) and thoracic back pain syndrome depending on the indicators of vertebrodynamics.

Materials and methods. Rehabilitation measures were carried out in 124 patients with DDPS complicated by thoracalgia syndrome at the post-acute stage of rehabilitation. The age of the patients was from 18 to 54 years. There were 51 (41.2 %) women, 73 (58.8 %) men. The duration of the disease was from 2 to 23 years. A rehabilitation examination was carried out with an assessment of vertebrodynamic disorders indicators according to the A. Stoddard method. All patients had functional block of the 2nd degree in the vertebral-motor segments of the thoracic spine. Patients were divided into 2 groups, comparable in age and disease severity. The first group (n = 56) received a basic complex of rehabilitation: massage, personalized sets of therapeutic exercises, physical methods of treatment (magnetotherapy, ultrasound therapy) against the background of drug treatment (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, muscle relaxants, analgesics). Patients of the second group (n = 68) were

prescribed, in addition, sessions of post-isometric and post-reciprocal muscle relaxation, mobilization techniques according to K. Lewit, R. Maigne, V. Gubenko, as well as the original methods of kinesiotherapy developed by us depending on the indicators of vertebrodynamics. The outpatient rehabilitation cycle lasted 14 days.

Results. The developed comprehensive scheme of patients examination based on neurological, manual, instrumental studies, assessment of pain syndrome, insomnia and affective disorders allows early diagnosis of the disease, as well as dynamic monitoring during treatment. The developed and tested complex kinesiotherapeutic treatment method with the use of manual therapy leads to a faster regression of neurological symptoms, restoration of the lost range of motion in the thoracic spine, reduction of pain and the risk of DDPS exacerbation, shortening the time of treatment and rehabilitation of patients, and improving their quality of life.

Conclusions. The comprehensive differentiated rehabilitation with the use of manual therapy developed and researched in the work has confirmed its effectiveness, which allows recommending its use in clinical and rehabilitation practice, and provides significant economic effect in the treatment of this contingent of patients.

Modern medical technology. 2024;16(4):273-283

Останніми роками у багатьох країнах світу все більшого поширення набувають хронічні болі у спині переважно серед працездатного населення. Найчастішою причиною захворювань периферичної нервової системи є дегенеративно-дистрофічні зміни міжхребцевого диска, що спричиняють формування клінічних проявів остеохондрозу хребта. Вивченню цієї проблеми присвячено праці провідних учених України та світу [1].

Статистичні дані свідчать, що виражені клінічні прояви вертеброгенної торакалгії визначають в осіб віком 25–55 років, тобто в період найактивнішої трудової діяльності. Поширеність хронічних торакалгій становить майже 25,4 на 100 опитаних пацієнтів [2]. Отже, загострення клінічних проявів остеохондрозу хребта – одна з найчастіших причин тимчасової непрацездатності, що призводить до значних економічних втрат. У зв'язку з цим своєчасність діагностики та лікування неврологічних проявів цієї патології є важливою проблемою сучасної охорони здоров'я.

Залежно від причини розрізняють вертеброгенні та невертеброгенні больові синдроми. До вертеброгенних торакалгічних синдромів належать ураження грудних корінців при грижі міжхребцевого диска, стенозі хребетного каналу, спондилітезі та нестабільності, артропатичний синдром при дегенеративному ураженні дуговідростчастих і реберно-поперечних суглобів, злоскісні новоутворення хребта, запальні й інфекційні ураження, компресійні переломи тіл хребців внаслідок остеопорозу. Причиною невертеброгенних больових синдромів може бути патологія внутрішніх органів. Міогенні больові синдроми можуть формуватися під впливом і вертеброгенних, і невертеброгенних змін [3].

За локалізацією розрізняють локальний, відбитий, іррадіюючий біль у грудній клітці. Локальний біль пов'язаний із патологічним процесом, який впливає на больові рецептори шкіри, м'язів, сухожиль, зв'язок, суглобів, кісток та інших тканин. Відбитий біль поширюється у межах дерматомів, пов'язаних з іннервацією пошкоджених структур і зумовлений найчастіше патологією внутрішніх органів. Біль, що іррадіює, пов'язаний із розтягненням, подразненням, стисненням корінця або соматичного нерва, характеризується більшою інтенсивністю та дистальним поширенням у зону відповідного дерматома, зазвичай посилюється при чханні, кашлі, фізичному навантаженні [4].

Усі наведені чинники зумовлюють зниження функціональності хребта та відіграють опосередковану роль у розвитку дегенеративно-дистрофічного процесу, призводячи до нерівномірного навантаження на диск. Зауважимо, що є тенденція до прогредієнтності в молодому та зрілому віці, й активною регредієнтністю ця тенденція вирізняється у похилому віці.

Остеохондроз – патоморфологічний процес, що не завжди виявляють за активним больовим синдромом, а випадково діагностують під час рентгенологічного дослідження ураженого відділу хребта. Досить часто не виявляють закономірності між ступенем вираженості морфологічних змін хребта й інтенсивністю больового синдрому [5].

У патогенезі остеохондрозу хребта розрізняють дві фази: перша – дистрофічних змін у міжхребцевому диску, що не має клінічних проявів; друга фаза характеризується клінічними проявами. У розвитку першої фази беруть участь такі основні фактори: локальні навантаження в хребцево-рухових сегментах (ХРС), що виникають у побуті та на виробництві, особливості будови та функціонування опорно-рухового і м'язового апарату, порушення у трофічних системах, зумовлені супутніми захворюваннями, спадковою схильністю, а також впливом зовнішніх факторів. Друга фаза – формування клінічних проявів [6].

Першою ознакою вертебрального синдрому є порушення функціонування одного чи кількох ХРС. Формується їхня нестабільність, що змінюється локальною, обмеженою або поширеною міофіксацією хребта; потім виникають порушення зв'язково-суглобової та м'язової фіксації, що супроводжуються змінами конфігурації хребта: ущільненням або посиленням лордозу, гіперкіфозом, сколіозом, кіфосколіозом або лордозом. Порушення рухливості ХРС визначають за напруженням глибоких і поверхневих м'язів спини [7].

Друга важлива ознака вертебрального синдрому – локальний біль і болючість під час активних чи пасивних рухів, що виникають внаслідок подразнення рецепторів синуввертебрального нерва та патологічної імпульсації з вертебрального осередку. Ця імпульсація зумовлює рефлекторне тонічне напруження м'язів у відповідних міотомах [8].

Третя ознака вертебрального синдрому – ураження хребетного сегмента, що полягає у втраті ресорної та суглобової функцій міжхребцевого диска.

Нині розрізняють такі стадії дегенеративно-дистрофічних змін міжхребцевих дисків:

– 1 стадія – деполімеризації глікозаміногліканів пульпозного ядра, що призводить до зниження гідрофільності та буферних властивостей диска, зменшення еластичності фіброзного кільця;

– 2 стадія – пульпозне ядро пролабує змінене фіброзне кільце, у якому з'являються тріщини;

– 3 стадія – розрив фіброзного кільця, випадіння желатинозного ядра та наступний фіброз диска, що пролабується [9].

Для першої стадії характерні дегенеративно-дистрофічні зміни в міжхребцевих дисках, зокрема зниження кількості глікозаміногліканів, що мають важливу функцію швидко зв'язувати і віддавати воду, забезпечуючи оптимальний внутрішньодисковий тиск, а це дає змогу хребту швидко пристосовуватися до змінних навантажень. Патологічний процес зменшує амортизувальні функції міжхребцевого диска, що призводить до зміщення хребців щодо один одного, натягування волокон фіброзного кільця міжхребцевого диска та спричиняє подразнення рецепторів нерва Люшка [10].

Для другої та третьої стадій дегенеративно-дистрофічних змін міжхребцевого диска характерний розвиток компресійного механізму подразнення рецепторів синувертебрального нерва. У результаті порушень цілісності фіброзного кільця та появи тріщин, пролапсів і гризових випинань розвивається компресійний механізм. Незалежно від цього відбувається вплив на саногенез, який супроводжується посиленням судинної проникності, фагоцитозом, що спричиняє пошкодження клітинних мембран, виділення кінінів і виражену макрофагально-фібробластичну запальну реакцію. Отже, основними причинами подразнення синувертебрального нерва є набряк, венозний стаз, порушення мікроциркуляції та фіксації ураженого ХРС, порушення цілісності фіброзного кільця, – що призводить до утворення тріщин, гризового випинання пульпозного ядра, рубців [11].

Останніми роками актуальним є розроблення немедикаментозних методів лікування хворих на вертеброгенні захворювання із застосуванням кінезіотерапії, методик мануальної терапії, спрямованих на покращення резервних можливостей організму, стійкості досягнутих ефектів, поліпшення мікроциркуляції в тканинах, відновлення нормальної рухливості в ХРС [12]. Втім, чимало праць вітчизняних і зарубіжних авторів присвячено вивченню та лікуванню уражень шийного та поперекового відділів хребта, а реабілітаційні підходи до менеджменту вертеброгенних торакалгій вивчено недостатньо.

Отже, необхідність підвищення ефективності лікування та реабілітації хворих на вертеброгенні торакалгії, що дасть змогу зменшити ризики загострення та економічні втрати при відновленні пацієнтів із цієї патологією, зумовлює актуальність і значущість порушеної проблеми.

Мета роботи

Визначити ефективність застосування комплексної диференційованої реабілітації у хворих з дегенеративно-дистрофічною патологією грудного відділу хребта та торакалгічним синдромом залежно від показників вертебродинаміки.

Матеріали і методи дослідження

Реабілітаційних заходів вжили у 124 пацієнтів із дегенеративно-дистрофічною патологією грудного відділу хребта (ДДПХ), що ускладнена синдромом торакалгії, на амбулаторному етапі реабілітації. Середній вік пацієнтів становив $39,77 \pm 0,69$ року. До дослідження залучили 51 (41,2 %) жінку та 73 (58,8 %) чоловіків. Тривалість захворювання становила в середньому $12,16 \pm 0,56$ року.

Здійснили реабілітаційне обстеження з оцінюванням показників порушень вертебродинаміки за методом А. Stoddard. У всіх пацієнтів виявлено функціональний блок (ФБ) 2 ступеня в ХРС грудного відділу хребта.

Шляхом рандомізації пацієнтів поділили на 2 клінічні групи реабілітації. Аналіз клініко-демографічних даних показав однорідність отриманих виборок (зіставні за віком, статтю, тяжкістю захворювання) та можливість отримання достовірних даних під час статистичного аналізу. Хворі першої групи ($n = 56$) отримували базовий комплекс реабілітації: медикаментозне лікування за потребою (нестероїдні протизапальні засоби, міорелаксанти, анальгетики), масаж, персоніфіковані комплекси терапевтичних вправ, фізичні методи лікування (магнітотерапія, ультразвукова терапія). Пацієнтам 2 групи ($n = 68$) додатково до базового лікування призначали сеанси постізометричної та постреципрокної релаксації м'язів, техніки мобілізації за К. Lewit, R. Maigne, В. Губенком [13], а також оригінальні розроблені нами методики кінезіотерапії залежно від показників вертебродинаміки. Цикл амбулаторної реабілітації становив 14 днів.

Обстеження включало загальні аналізи крові та сечі, біохімічний аналіз крові, рентгеноспондилографію грудного відділу хребта в прямій і бічній проекціях, за наявності показань – магнітно-резонансну томографію грудного відділу хребта, консультації лікарів суміжних спеціальностей (терапевт, кардіолог, невролог, нейрохірург). Для диференціальної діагностики з соматичними захворюваннями або супутньої клінічно значущої патології внутрішніх органів (включаючи симптоматику, що пов'язана з «відбитим» вісцерогенним характером) на етапі скринінгу аналізували дані ЕКГ, навантажувальних кардіальних проб, ехокардіоскопії, лабораторних біомаркерів ураження міокарда, холтеровського моніторингу, спірографії, езофагогастроуденоскопії та рентгенографії органів грудної клітки тощо.

Для оцінювання вертебро-неврологічного статусу та наступного спостереження за динамікою неврологічних синдромів усім пацієнтам здійснили комплексне обстеження із застосуванням низки додаткових досліджень. Діагноз за основним захворюванням на етапі амбулаторної реабілітації встановлювали на підставі скарг хворого, анамнезу захворювання, анамнезу життя, виявлення супутньої патології внутрішніх органів, відомостей щодо травм і операцій в анамнезі, за результатами клініко-неврологічного та мануального обстежень. Уточнювали характер та інтенсивність болю, їхню залежність від наявності рухів. Вертебро-неврологічне обстеження хворих здійснили за загальноприйнятою схемою в динаміці: на початку, у процесі та після закінчення курсу реабілітації.

Усім хворим виконали комплексне реабілітаційне обстеження. Для оцінювання стану м'язової системи використали мануальний м'язовий тест (Medical Research Council Scale, R. Van der Ploeg et al., 1984). М'язову силу оцінювали за п'ятибальною шкалою: 5 балів – м'язова сила не знижена; 4 бали – помірно знижена; 3 бали – значно знижена; 2 бали – різке зниження м'язової сили; 1 бал – незначне скорочення м'язів без істотної зміни довжини; 0 балів – відсутність скорочень у м'язі.

Стан рухової сфери оцінили за результатами вимірювання функцій та обсягу активних і пасивних рухів у грудному відділі хребта (бічні нахили, згинання вперед, розгинання назад, обертання).

Під час вивчення неврологічного статусу захворювання оцінювання здійснювали за такими критеріями, як локалізація болю, його інтенсивність, іррадіація, характер, положення тіла, при якому біль посилюється чи слабшає; оцінювання положення голови, плечей, таза; фізіологічні вигини хребта (сколіоз, кіфоз); пальпація в місцях прикріплення трапецієподібного, ромбоподібного, найширшого м'язів спини (під час пальпації як критерії оцінювання враховували біль в ділянках остистих відростків, тіл хребців, паравертебральних точок; рухливість окремих ХРС, суглобові блокади; біль при осьовому навантаженні на хребет).

М'язовий тонус визначали зі встановленням трьох ступенів: перший – незначне підвищення, під час пальпації відносно легко можна проникнути у товщу м'язя і пропальпувати окремі пучки; другий – помірне підвищення, під час пальпації м'яз щільний, і в його товщу проникнути складно; третій ступінь – різко виражене підвищення тону, м'яз кам'янистої щільності, неможливість пальпації.

Визначали чутливі розлади: гіпестезію, гіперестезію, парестезії, гіперпатію. Розрізняли вертебральні рефлекторні деформації грудного відділу хребта: зміни фізіологічної кривизни, наявність патологічної кривизни, кіфоз (посилення, сплющення), сколіоз. Здійснили контроль рефлекторної сфери: рефлекси знижені, підвищені, анізорефлексія, випадіння рефлексів. Дослідили вегетативно-судинні та нейродистрофічні розлади.

Під час оцінювання вертеброгенних торакалгій враховували такі критерії: локалізація болю в грудному відділі хребта та грудній клітці, вимушене положення та зміна пози, пов'язана зі змінами конфігурації хребта, залежність інтенсивності болю від навантажень на хребет, рухів у ньому, іммобілізація, відсутність травматичного впливу на хребет, обмеження чи відсутність рухів у грудному відділі хребта, міодистрофічні та міодистонічні зміни у паравертебральних м'язах грудного відділу хребта, зменшення чи зникнення клінічних проявів під впливом лікувальних заходів, спрямованих на грудний відділ хребта.

Ефективність реабілітації також аналізували на підставі оцінювання больового синдрому (за візуальною аналоговою шкалою (ВАШ) та McGill), якості життя (за шкалою EuroQOL-5D). Важливий критерій у клініці неврологічних проявів при вертеброгенних торакалгіях – оцінювання больового синдрому, що є важливим з погляду динаміки захворювання, психоемоційного фону хворого й оцінювання ефективності

різних видів консервативного лікування. Для оцінювання болю застосовували ВАШ усім пацієнтам на початку та після закінчення курсу реабілітації. Хворому пропонували прийняти максимально можливий біль за 100 % і позначити його на відрізьку, а потім відкласти пропорційно до масштабу ступінь пережитого під час обстеження больового відчуття.

Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Шапіро–Вілкі. Якщо розподіл змінної підпорядковувався нормальному закону, використовували процедуру однофакторного дисперсійного аналізу, відкидаючи нульову гіпотезу про відсутність розбіжності вибіркової сукупності при $p < 0,05$. Порівняння груп за якісною ознакою здійснили за допомогою критерію χ^2 . Під час статистичного опрацювання даних використали ліцензійну програму Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

Результати

Основний клінічний симптом вертеброгенних торакалгій – біль у грудному відділі хребта, який визначили у 120 (96,77 %) пацієнтів. Під час суб'єктивної характеристики болю визначали за такими критеріями, як ниючий, колючий, стискальний, пекучий, з відчуттям важкості, хрускоту, біль у міжлопатковій ділянці, з відчуттям скутості у грудному відділі хребта. Тривалість больового синдрому оцінювали в діапазоні від незначної до тривалої (збільшувалася під час кашлю, різких рухів). Характерна особливість болю – його залежність від рухів і фізичних навантажень, а також посилення під час ходьби, при згинанні та розгинанні, що не припиняється іноді навіть у спокої. У 50 (40,32 %) хворих біль іррадіював у ліву руку, під ліву лопатку, посилювався при зміні положення тіла, тривалому сидінні, кашлі, чханні. Під час пальпації тригерних зон у 100 (80,65 %) хворих визначили болісні ділянки (вузлики Корнеліуса, гіпертонуси Мюллера). У 95 (76,61 %) пацієнтів визначали сегментарні вегетативні порушення: похолодання, мармуровість шкірних покривів (кистей, стоп), гіпергідроз, дермографізм рожевий, блідий.

У результаті клініко-вертеброневрологічного обстеження виявлено, що біль локалізований у грудному відділі хребта без іррадіації – у 60 (48,39 %) хворих; у грудному відділі хребта з іррадіацією в ліву руку – у 50 (40,32 %), при цьому болісні відчуття ставали пекучими, розлитими, виникали вегетативні порушення (посилення потовиділення, зміна тургору та забарвлення: почервоніння або збліднення шкірних покривів); у грудному відділі хребта з іррадіацією в праву руку – у 10 (8,1 %) осіб; біль під час кашлю – у 7 (5,65 %); у грудному відділі хребта з іррадіацією під ліву лопатку – у 30 (24,19 %) пацієнтів; у грудній клітці – у 27 (21,77 %); під час пальпації остистих відростків – у 120 (96,77 %); під час пальпації паравертебральних точок – у 124 (100 %); біль при осьовому навантаженні на хребет – у 70 (56,45 %) випадках; біль у м'язах – у 42 (33,87 %); у міжлопатковій ділянці – у 20 (16,13 %) осіб; у 25 (20,16 %) хворих біль у ділянці серця провокував різкий незграбний рух, підняття важкого або перебування в незручній позі, і нападу передували болі в ділянці хребта чи надпліччя. Зауважимо, що прийом нітрогліцерину чи інших коронароактивних препаратів больовий синдром не купірував.

Під час рухів тулуба болі змінювалися у 35 (28,23 %) хворих, під час рухів шиї – у 15 (12,1 %); 10 (8,1 %) пацієнтів мали скарги на запаморочення, 70 (56,45 %) осіб – на підвищену стомлюваність та порушення сну.

Дослідили рефлекс: кістково-абдомінальний рефлекс Бехтерева (викликає скорочення м'язів передньої черевної стінки, дуга замикається через сегменти Th5-Th6) виявлено у 55 (44,35 %) хворих; болючість у точках Лазарева (паравертебральні точки на рівні Th3-Th4) зафіксовано у 40 (32,26 %) осіб, болючість у місцях м'язових вузликів та ущільнень (точки Мюллера, Корнеліуса). Порушення функції хребта: зміну ходи, наявність анталгічної пози, обмеження рухів у грудному відділі хребта – виявлено у 120 (96,77 %) пацієнтів. Анізорефлексію (з рук) визначили у 25 (20,16 %) пацієнтів. Чутливі розлади, зокрема гіперестезію, гіпестезію, парестезію, визначено у 80 (64,52 %) хворих, гіпотрофію м'язів плечового пояса – у 17 (13,71 %).

У більшості пацієнтів (крім болю в грудному відділі хребта) визначили болі в шийному відділі з локалізацією за грудиною та в підключичній ділянці – у 40 (32,26 %) осіб, у поперековому – у 65 (52,42 %). Це свідчить про наявність рефлекторного механізму торакалгії та пов'язано, як можна припустити, з жорсткою анатомічною фіксацією грудного відділу хребта, яка є своєрідною іммобілізацією міжхребцевих зчленувань.

Результати обстеження показали: торакалгії вертеброгенного ґенезу характеризуються різноманітним характером болю і, як правило, постійною локалізацією, з якою пов'язана певна іррадіація больових відчуттів і болючість під час пальпації м'яких тканин грудної клітки. За матеріалами клініко-неврологічного обстеження у хворих встановлено рефлекторні синдроми, основу яких становить патологічна імпульсація з переважним ураженням ХРС.

Визначення синдромів вертеброгенної торакалгії дає змогу точніше спрямувати лікувальну дію на головну ланку та поліпшити ефективність комплексного лікування. Тому розрізняли такі клінічні варіанти синдрому вертеброгенної торакалгії:

- лопатково-реберний синдром – 25 (20,16 %) пацієнтів;
- синдром передньої грудної стінки – 40 (32,26 %) пацієнтів;
- вертебрально-кардіальний синдром – 59 (47,58 %) пацієнтів.

Лопатково-реберний синдром визначили у 15 чоловіків і 10 жінок віком від 18 до 54 років. Критерії визначення цього варіанта синдрому: біль, пов'язаний із нахилом і поворотом голови; ниючий біль у шиї, верхньо-внутрішньому куті лопатки, з іррадіацією в плечовий суглоб, плече, що посилюється при зміні погоди; під час пальпації з'являється локальний, тупий біль, що проникає в глибину, при рухах лопаткою характерний «хрускіт» у ділянці її верхнього кута. Пацієнти по-різному описували характер болю: короткочасний або тривалий, ниючий, колючий, стискальний, ріжучий у ділянці лопатки, у міжлопатковій (частіше зліва) і в підлопатковій ділянках, відчуття незручності в лопатці, «хрускіт» у ній при різких рухах рукою, біль у навколососкової ділянці. Біль пов'язаний із різноманітністю джерел больової імпульсації. Змішаний характер болю визначили у 15 хворих. У пацієнтів цієї групи

болі мали точковий характер і локалізувалися в лопатковій ділянці (в лопатці та підлопатковій ділянці). У 10 хворих біль пов'язаний із диханням і рухом тулуба.

Функціональні блокади в сегментах нижньошийного відділу C7-Th1 виявлено у 7 пацієнтів, Th4-Th5 – у 18 хворих. Визначено також функціональну блокаду кістково-трансверзальних суглобів на рівні III-V ребер, іноді VI ребра, різку їхню болісність під час пальпації, у місці прикріплення до ребер ромбоподібного, верхньозубчастого і верхніх пучків найдовшого м'яза. Під час пальпації визначили болючість у III-VI ребрах і грудино-реберних зчленуваннях. У разі порушення функції кістково-трансверзальних суглобів виникла блокада у грудному відділі хребта з порушенням тону м'язів, функцією яких було піднімання лопатки. При тривалому перебігу захворювання ковзна пальпація спричиняла біль, що «стріляє» в руку, у 7 хворих діагностували болісний спазм малого грудного м'яза; у 6 пацієнтів – синдром гіперстезії.

Синдром передньої грудної стінки (пекталгія) діагностований у 17 чоловіків і 23 жінок віком від 30 до 54 років. Критерії залучення пацієнтів до цієї групи – залежність больового синдрому від пози, руху голови та рук, наявність вертебрального (рентгенологічні ознаки) та відповідного м'язово-тонічного синдрому (з болісністю в зонах дерматомів-міотомів C2-C8 у ділянці великого грудного, трапецієподібного, передніх драбинчастих і зубчастих м'язів), відсутність клінічних та інструментальних змін з боку серця, ефекту від нітрогліцерину й антикоагулянтів, клінічне поліпшення внаслідок вжиття заходів, спрямованих на лікування ДДПХ. Для цієї групи хворих характерні скарги на тупі, ниючі болі тривалого характеру – у 23 хворих; рідше пацієнти мали скарги на колючі, нападаподібні болі – 6 випадків; змішаний і періодичний характер болю – в 11 пацієнтів. Найчастіша локалізація – зліва від грудини, виявлена у 18 хворих; біль у грудній клітці визначено у 5 осіб; 17 пацієнтів мали скарги на біль, що посилюється під час руху.

Обмеження рухливості рухових сегментів грудного відділу Th1-Th4 виявлено у 7 пацієнтів; Th4-Th5 – у 12; Th6-Th12 – у 5; шийно-грудного переходу на рівні C6-C7, Th1-Th2 зліва – у 6 випадках; гіперстезію на передній поверхні грудної клітки визначено у 10 пацієнтів.

Вертебрально-кардіальний синдром діагностовано у 41 чоловіка і 18 жінок віком від 27 до 54 років. На підставі критеріїв діагностики, вертебрально-кардіальний синдром має такі особливості: нехарактерна для первинної соматичної патології клінічна картина вісцеропатій; наявність місцевих вегетативних порушень; розвиток вісцеральних розладів одночасно чи невдовзі після клінічного прояву у грудному відділі хребта; чіткий зв'язок загострень і ремісій вісцеропатій із перебігом остеохондрозу хребта та його неврологічних проявів; почастішання та посилення пароксизмів вісцералгії та порушень вісцеральних функцій під впливом факторів, специфічних для остеохондрозу хребта; наявність радикальної симптоматики чи інших ознак залученості відповідного відділу хребта; типові для остеохондрозу рентгенологічні зміни відповідного відділу хребта; відсутність виражених патологічних змін під час використання додаткових методів обстеження внутрішніх органів чи його атипичний характер; значне покращення вісцеральних функцій і зменшення вісцералгії, коли

вжито заходи, що спрямовані на лікування остеохондрозу хребта; не досягнуто лікувального ефекту від застосування кардіотропних препаратів.

Під час досліджень застосовано такі критерії: наявність у хворого 2–3 ознак, що давало змогу припустити вертеброгенний характер цих порушень. Якщо виявляли п'ять і більше ознак, зв'язок вісцеральних розладів з ураженням хребта вважали доведеним, хворому встановлювали діагноз вертеброгенної вісцеропатії відповідної локалізації.

Критерії залучення пацієнтів до цієї групи – скарги на біль у серці (всі хворі); п'ятеро обстежених біль у ділянці серця відчували разом із сильним болем у грудному відділі хребта. Вертеброгенний характер болю в серці об'єктивізовано відсутністю патологічних змін на ЕКГ навіть під час нападів, неефективністю прийому нітрогліцерину, чіткою залежністю виникнення болю в ділянці серця під час загострення клінічних проявів грудного остеохондрозу. Залежність цього виду болю від патологічної імпульсації з грудного відділу хребта підтверджувало те, що майже у всіх хворих цієї групи в результаті лікування біль у хребті зник (55 випадків) чи значно зменшився (4 пацієнти).

Характерними були скарги на болі поширеного характеру, що виявлені у 18 хворих; ниючі болі в міжлопатковій ділянці – у 22; біль у грудному відділі хребта з іррадіацією під ліву лопатку – у 19 пацієнтів. Біль зазвичай характеризувався тривалістю і стійкістю.

Функціональні блокади хребцево-рухових сегментів Th3–Th4–Th5 визначили у 55 (93,22 %) пацієнтів. Під час обстеження виявили обмеження обсягу активних і пасивних рухів, що поєднувалося з вираженою болючістю в цьому сегменті та різкою болючістю під час пальпації остистого відростка Th3–Th4–Th5, міжостистої зв'язки на рівні Th3–Th4–Th5 ХРС; у довгих м'язах спини, більше зліва пальпували болісні ділянки локального м'язового напруження.

Клінічні ознаки при різних синдромах вертеброгенної торакалгії наведено в *таблиці 1*.

Локалізацію тригерних точок, виявлену під час пальпації у пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями, наведено в *таблиці 2*.

У результаті дослідження встановили, що в основі всіх названих синдромів – функціональні блокади грудного відділу Th4–Th6 і шийно-грудного переходу хребта C6–Th2. Порушення нормальної рухливості реберно-поперечних з'єднань і рухливості ребер, а також рефлекторні зміни в періартикулярних м'язах, пов'язаних із блокованими суглобами, та м'язах, пов'язаних із блокованими руховими сегментами хребта.

У результаті обстеження пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями й аналізу отриманих даних виявили зв'язок болю за грудиною, підключичній ділянках з іррадіацією в міжлопаткову ділянку, під ліву лопатку, ліву руку з функціональними блокадами ХРС Th4–Th5 і вираженим кіфозом. Встановлено зв'язок іррадіації болю в міжлопаткову ділянку, шию, ліву руку зі згладженістю грудного кіфозу, з функціональними блокадами на рівні верхньогрудного Th1–Th2 та нижньогрудного Th6–Th8 відділів хребта. Наголосимо на зв'язку болю в грудному відділі хребта з частотою блоkad на рівні Th1–Th4 та шийно-грудного переходу, що пояснюється підвищенням

функціонального навантаження на ці сегменти у пацієнтів із вертеброгенною торакалгією. Біль у ділянці серця з іррадіацією в ділянку шиї показує зв'язок функціональних блоkad C6–C7 зліва та верхньогрудного Th1–Th4 відділів хребта. Торакалгії в ділянці грудни показують функціональні блокади шийно-грудного переходу C7–Th2, що поєднуються з порушеннями нижньогрудного Th5–Th8 відділу хребта.

Один із провідних симптомів у клініці вертеброгенної торакалгії – м'язово-тонічні прояви, визначені у 124 (100 %) хворих. У 10 (8,1 %) хворих із вертеброгенними торакалгіями, що пов'язані з функціональними порушеннями нижньошийного відділу хребта, визначили підвищення м'язового тону в паравертебральних, міжреберних м'язах, підключичній ямці, у горизонтальній і вертикальній проєкціях трапецієподібного м'яза, у верхній частині великого грудного м'яза (вузлики Корнеліуса в надключичній ямці). У 60 (48,39 %) пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями, які пов'язані з функціональними порушеннями верхньогрудного відділу хребта, виявлено підвищення м'язового тону у грудних і довгих м'язах спини. У 35 (28,23 %) обстежених із вертеброгенними торакалгіями, що пов'язані з лопатково-реберним варіантом синдрому, зафіксовано підвищення м'язового тону: м'яза, що піднімає лопатку, міжреберних м'язів, ромбоподібного, трапецієподібного, рефлекторно пов'язаного з блокованими м'язами реберно-поперечних суглобів. У 20 (16,13 %) пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями, які пов'язані з синдромом передньої грудної стінки, встановлено посилення м'язового тону у великому та малому грудних м'язах. У 95 (76,61 %) хворих больові точки локалізовані у лівій половині грудної клітини, у 25 (20,16 %) пацієнтів визначена двобічна локалізація болісних точок, у 4 (3,23 %) пацієнтів – у правій половині грудної клітки. У 10 (8,1 %) обстежених у середньому пальпували по 4–5 больових точок.

Вегето-судинні прояви за типом вазоспазму встановлені у 25 (20,16 %) хворих. Крім того, різноманітні вегетативні порушення визначено у більшості пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями (бліді ділянки шкіри верхніх кінцівок, збліднення або ціаноз нігтьових фаланг, неприємні відчуття – печіння, поколювання).

Аналіз наведених даних свідчить, що серед частих рентгенологічних ознак – субхондральний склероз (у 95 (76,61 %) хворих), що є пристосувальною реакцією організму на функціональне навантаження хребта. Зниження висоти міжхребцевого диска є однією з перших рентгенологічних ознак, що свідчить про розвиток дегенеративно-дистрофічного процесу у тканині диска (зафіксовано у 60 (48,39 %) хворих). Утворення невеликих крайових кісткових розростань – остеофітів – зумовлено компенсаторною пристосувальною реакцією, що виникає внаслідок зміни навантаження на тіло хребця. Остеофіти поширюються вздовж кількох хребців, що виявлено у 65 (52,42 %) пацієнтів. Грудний сколіоз діагностували у 58 (46,77 %) осіб; деформувальний спондиліоз визначили рентгенологічно за кістковими розростаннями, що оточують ХРС на рівні одного, рідше – двох ХРС. У разі прогресування спондиліоз призводить до поступового формування кісткового блоку, що виявлено у 38 (30,65 %) обстежених;

Таблиця 1. Клінічні ознаки при різних синдромах вертеброгенної торакалгії

Клінічні ознаки		Клінічні варіанти вертеброгенної торакалгії		
		Лопатково-реберний синдром, n = 25	Синдром передньої грудної стінки, n = 40	Вертебрально-кардіальний синдром, n = 59
Характер болю	Ниючий	16	23	18
	Нападоподібний	3	6	–
	Тривалий	6	11	41
Локалізація болю	У грудній клітці	–	5	–
	Над- і підключична ділянки	–	–	–
	У ділянці серця	–	18	55
	У грудному відділі хребта	25	17	4
Іррадіація болю	У шию	–	7	–
	У ліву руку	10	2	8
	У ділянку лопатки	15	–	19
Зв'язок болю з рухом		10	17	35
Запаморочення		–	3	9
Серцебиття		20	2	3

спондилоартроз свідчить про дегенерацію суглобових хрящів, діагностований у 20 (16,13 %) випадках; хрящові вузли тіл хребців (грижі Шморля) виявлено у 15 (12,1 %) хворих. Ознаки дегенеративно-дистрофічних змін грудного відділу хребта наведено в таблиці 3.

У більшості пацієнтів ураження виявляли одночасно у двох – трьох ХРС. Крім того, функціональні блокади найчастіше визначали у ділянці шийно-грудного переходу С7–Тh1. У результаті дослідження зробили висновок, що згладженість грудного кіфозу спричиняє розвиток функціональних блоkad у верхньогрудному відділі хребта Th3–Th4 та зумовлює їх утворення лише на рівні Th5–Th6. Якщо грудний кіфоз виражений, формуються функціональні блокади у шийно-грудному відділі хребта С6–Th6.

Найпоширеніші рентгенологічні ознаки дегенеративно-дистрофічних змін грудного відділу хребта, згідно з результатами дослідження, – субхондральний склероз, остеофіти, зниження висоти міжхребцевого диска. Найчастіше локалізацію дегенеративно-дистрофічних змін визначили на рівні С7–Th1, Th3–Th4, Th4–Th5, Th5–Th6 ХРС.

Після циклу реабілітації у 78,6 % пацієнтів 1 групи досягнуто покращення вертебродинамічних показників, а саме відновлення обсягу рухів у ХРС на грудному рівні. У хворих 2 групи позитивну динаміку спостерігали у більшій щодо першої групи частки пацієнтів – у 94,1 % випадків. Ознаки ФБ зберігалися у 12 (21,4 %) із 56 осіб першої групи та у 4 (5,9 %) із 68 хворих другої групи. Отже, на фоні використання кінезіотерапевтичних технологій лікування у другій групі хворих досягнуто кращих показників ефективності реабілітаційних заходів.

Встановили, що комплексний курс реабілітації хворих із вертеброгенними торакалгіями сприяв нормалізації ве-

гетативного тону, поліпшенню самопочуття та настрою, нормалізації сну, крім того, у пацієнтів з'являлося відчуття впевненості у своїх силах.

Після закінчення курсу амбулаторної реабілітації для профілактики пацієнтам рекомендовано запобігання та зменшення перевантажень опорно-рухової системи (стояти, сидіти, лежати, піднімати важкі предмети згідно з реабілітаційними методиками), персоніфіковані терапевтичні вправи, дотримання раціонального харчування, ортезування, оптимальний руховий стереотип (намагатися уникати рухів, що провокують загострення), уникати переохолоджень, ергономічне планування повсякденної діяльності, робочого місця.

Зауважимо, що у хворих із клінічними проявами ДДПХ грудного відділу хребта групи порівняння достовірно частіше зареєстровано значення п'ятикомпонентної системи EuroQOL-5D понад 4 бали ($\chi^2 = 11,63$, $p < 0,01$). Згідно зі шкалою болю ВАШ, пацієнти до та після кінезіотерапевтичних комплексів фіксували, чи відчувають вони біль через хворобу та наскільки сильний біль вони відчували через хворобу протягом останніх 7 днів. Згідно з цією шкалою встановлено статистично достовірне зниження інтенсивності больового синдрому у 93,75 % пацієнтів після реабілітаційних заходів за авторською методикою.

Застосування оригінальної методики кінезіотерапії в рамках реабілітаційних заходів під час лікування дегенеративно-дистрофічних процесів грудного відділу хребта характеризувалося достовірним більшим регресом інтенсивності больового синдрому на 32,19 % vs 14,74 % ($p < 0,05$, ВАШ) та зменшенням активності сенсорного компонента болю (анкета болю McGill) (у 3,71 vs 1,22 раза, $p < 0,001$) порівняно з показниками групи хворих, які отримували лікування за рутинними методиками.

Таблиця 2. Локалізація тригерних точок, що виявлені під час пальпації в пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями

Локалізація	Кількість пацієнтів, n = 124	
	Осіб	%
Остистий відросток С6 хребця	15	12,10
Остистий відросток С7 хребця	10	8,10
Остистий відросток Th1 хребця	11	8,87
Паравертебральні точки на рівні Th1 хребця	10	8,10
Остистий відросток Th2 хребця	10	8,10
Паравертебральні точки на рівні Th2 хребця	5	4,03
Остистий відросток Th3 хребця	14	11,29
Паравертебральні точки на рівні Th3 хребця	11	8,87
Остистий відросток Th4 хребця	80	64,52
Паравертебральні точки на рівні Th4 хребця	75	60,48
Остистий відросток Th5 хребця	70	56,45
Паравертебральні точки на рівні Th5 хребця	60	48,39
Остистий відросток Th6 хребця	21	16,94
Паравертебральні точки на рівні Th6 хребця	15	12,10
Грудино-реберне зчленування – 3 ребро	15	12,10
Грудино-реберне зчленування – 4 ребро	45	36,29
Грудино-реберне зчленування – 5 ребро	55	44,35
Великий грудний м'яз	100	80,65
Малий грудний м'яз	95	76,61
Трапецієподібний м'яз	60	48,39
М'яз, що піднімає лопатку	50	40,32
Передній зубчастий м'яз	17	13,71
Надостний м'яз	41	33,06

Таблиця 3. Рентгенологічні ознаки дегенеративно-дистрофічних змін грудного відділу хребта

Локальні рентгенологічні ознаки	Кількість пацієнтів, n = 124	
	Осіб	%
Зменшення висоти міжхребцевого диска	60	48,39
Субхондральний склероз замикальних пластинок тіл хребців	95	76,61
Грижі Шморля	15	12,10
Остеофіти	65	52,42
Деформувальний спондиліоз	38	30,65
Спондилоартроз	20	16,13
Аномалії розвитку	5	4,03
Грудний гіперкіфоз	55	44,35
Сколіоз	58	46,77

Отже, крім регресу клінічних симптомів, зменшення інтенсивності болю, спостерігали відновлення якості життя, і фізичного, і психосоціального статусу; статистично достовірно покращилися показники загального стану здоров'я, збільшилась фізична активність, значно зменшилася роль фізичних та емоційних проблем, налагодилася соціальна активність, поліпшилася життєздатність пацієнтів.

Обговорення

Комплексна характеристика клінічних проявів у хворих із дегенеративно-дистрофічною патологією грудного відділу хребта дає підстави обґрунтувати вибір клініко-інструментальних методів дослідження залежно від ступеня деформації хребта, уточнити фактори ризику загострень та їхній зв'язок із вертебологічними порушеннями.

Порівняльне оцінювання, здійснене під час первинного реабілітаційного обстеження (мануальна діагностика) та терапії, показало: патологія розташування тіл хребців (антелістез, ретролістез, латеролістез) пов'язана з порушенням функції з'єднання суміжних хребців, структурними змінами суглобів, хребців, що призводять до втрати амортизаційних функцій, порушення рухливості [14].

На ранніх стадіях захворювання порушення одних відділів спочатку компенсуються, а потім залучають інші відділи хребта. Функціональні зв'язки між руховими сегментами хребта сприяють компенсації функціонального порушення, спричиненого блокадою міжхребцевих суглобів та утворенням блоkad у сегментах, що пов'язані з функціональними блокадами. Отже, хребет – єдина біомеханічна система, всі відділи якої тісно взаємопов'язані [15].

Наступні дослідження цієї медичної проблеми стануть підґрунтям для розроблення статистичної моделі прогнозування кількісного оцінювання ризику розвитку загострень дегенеративно-дистрофічної патології грудного відділу хребта. Розробка та впровадження персоналізованої програми реабілітації хворих із дегенеративно-дистрофічною патологією грудного відділу хребта на різних етапах реабілітації здійснюватиметься, зважаючи на результати дослідження та беручи до уваги провідні сучасні практики реабілітації таких пацієнтів.

Один із важливих етапів комплексного лікування хворих – біодинамічна корекція. Для усунення больових синдромів у пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями, враховуючи особливості конкретного хворого, показання та протипоказання до застосування, використовують диференційовані мануальні методики [16].

Беручи до уваги ймовірність виникнення небажаних побічних ефектів при відновленні функціональних блоkad за допомогою жорстких маніпуляцій, що використовують «класичні» мануальні терапевти (розвиток тимчасової гіпермобільності на 2 та більше годинах, посилення больового синдрому на 6–24 годинах, розвиток вегетативних ефектів, а також можливе погіршення коронарного кровообігу), у сучасних методиках лікування намагаються застосовувати способи біодинамічної корекції (БК) як щадний метод впливу. БК заснована на нейрофізіологічних законах, враховує суглобову біомеханіку;

внаслідок цього досягають мобілізації гіпомобільних суглобів, розслаблення та розтягнення укорочених (або болісно напружених, гіпертонічних) м'язів, повернення сили розслабленим м'язам, покращення мікроциркуляції у змінених тканинах [17].

Застосування способу БК має низку переваг порівняно з класичною мануальною терапією, як-от висока ефективність, виконання маніпуляцій із меншим зусиллям, відсутність ускладнень (наприклад, посилення больового синдрому, розвиток тимчасової гіпермобільності). Заходи БК сприяють збільшенню рухливості в хребетному суглобі, зменшенню або повному зникненню спонтанного болю, відчуття тепла в зоні впливу, релаксації спазмованих м'язів і загальному заспокоєнню, нормалізації сну [18].

Особливостями цього методу лікування є ритм виконання мобілізаційних і маніпуляційних прийомів, а також ретельна підготовка хворого до біодинамічної корекції. БК здійснюють тричі на тиждень, курс лікування становить 3 сеанси. Всі прийоми біодинамічної корекції виконують при достатній релаксації хворого на видиху для відновлення рухової функції ХРС у нормальному анатомічному обсязі. Обсяг пасивних рухів хребта в патологічно зміненому ХРС доводять до максимально достатнього проведення коротковажельних маніпуляцій БК. Крім того, під час лікування використовують прийоми постізометричної аутомобілізації грудного відділу хребта. Лікувального ефекту при вертеброгенній торакалгії, як правило, досягають у хворих після 2–4 процедур мануального лікування [19].

Описаний спосіб відновлення включає комплекс заходів, що вживають у процесі діагностики, лікування та профілактики захворювань хребта. Він складається з прийомів мануального впливу, які виконують у щадному пружно-качальному режимі, дотримуючись низки принципів діагностичних і лікувальних впливів [20].

Алгоритм лікування запропонованим способом БК хребта передбачає 4 основні етапи [21]:

- релаксацію та покращення мікроциркуляції тонічно напружених або дегенеративно змінених м'язів відповідного рівня хребта;

- поетапну мобілізацію суміжних сегментів хребта й ураженого ХРС, поступове переведення ХРС зі стадії органічного блокування в стадію функціонального блокування за А. Stoddard;

- тракцію ураженого відділу хребта;

- щадну маніпуляцію ураженого ХРС, яка при латеролістезах починається пружним коливальним рухом дуго-відросткового суглоба з охопленням остистого відростка і максимальним виведенням ХРС в анатомічно правильне положення.

У фаховій літературі наведено такі рекомендації: при лопатково-реберному синдромі увагу приділяють передусім реберно-поперечним суглобам, їхній мобілізації або маніпуляції, відновленню нормальної рухливості ребер за допомогою мобілізації в ритмі дихання, а також відновленню нормальної функції м'язів, що піднімають лопатку (сегментарно-рефлекторним масажем) [22]. У разі синдрому передньої грудної стінки призначають передусім постізометричні вправи для відновлення функції грудних м'язів, а також виконують

сегментарно-рефлекторний масаж. Якщо діагностовано вертебрально-кардіальний синдром, пов'язаний із порушеннями нижньошийного відділу хребта, увагу приділяють насамперед відновленню функції його рухових сегментів за допомогою маніпуляцій на шийно-грудному переході С6–Тh2 та його мобілізації методом бічного згинання в положенні лежачи на спині, паралельно здійснюючи вплив на трапецієподібні м'язи сегментарно-рефлекторним масажем і постізометричною релаксацією [23]. Коли вертебрально-кардіальний синдром пов'язаний із порушеннями верхньогрудного відділу хребта, першорядне значення приділяють відновленню функції рухових сегментів грудного відділу Тh4–Тh5 прийомами мобілізації або маніпуляції, м'язів-ротаторів хребта – прийомами постізометричної релаксації [24].

Встановлено, що для успішного лікування вертеброгенних торакалгій важливе значення має одночасний вплив на рефлекторні прояви на шкірі, у сполучній тканині, м'язах та окісті. При цьому необхідно дотримуватися таких основних правил: треба усунути всі патобіомеханічні зміни, починаючи з основної ланки; обрати прийоми БК залежно від виду патобіомеханічних змін; усунути дисфункції знизу нагору, не пропускаючи жодної ділянки, впливаючи послідовно через всі види тканин (зовні всередину); не переходити до іншої ділянки, не вилікувавши попередню; враховувати в алгоритмі впливу характерні рефлекторні та вторинні біомеханічні прояви соматичних дисфункцій; запланувати в загальному комплексі лікування методи впливу на основне чи супутні захворювання, що можуть бути джерелом патобіомеханічних змін, чи визначати клінічний патоморфоз хвороби [25].

Після завершення маніпуляції необхідно дотримуватися постільного режиму протягом 30–120 хвилин, а також за необхідності фіксувати грудний відділ хребта ортопедичним корсетом.

Запропоновані оптимізовані кінезіотерапевтичні комплекси в післягострому та віддаленому реабілітаційних періодах у пацієнтів із дорсопатією грудного відділу хребта дали змогу отримати статистично значущий позитивний клінічний ефект і доцільні для впровадження в медичну практику. Ці вдосконалені реабілітаційні методики кінезіотерапії в комбінації з медикаментозним лікуванням достовірно сприяють підвищенню ефективності реабілітації та покращенню якості життя таких пацієнтів.

Отже, проблема лікування пацієнтів із вертеброгенними торакалгіями є актуальною та має важливе практичне значення. Розроблена та досліджена комплексна диференційована реабілітація з використанням мануальної терапії підтвердила свою ефективність, тому її можна рекомендувати до застосування у клінічній, реабілітаційній практиці. Ця схема реабілітації пацієнтів із ДДПХ забезпечує значний економічний ефект під час лікування.

Висновки

1. Вивчення клінічної картини рефлекторних міосклеротомних і рефлекторних відбитих торакалгій дало змогу вирізнити основні синдроми цих видів захворювання: синдром передньої грудної стінки, лопатково-реберний, вертебрально-

но-кардіальний синдром. Найпоширеніші вертебро-неврологічні симптоми захворювання – порушення обсягу активних рухів грудного відділу хребта, наявність функціональних та органічних блоків хребцево-рухових сегментів, корінцеві та м'язово-тонічні порушення.

2. Розроблена комплексна схема обстеження хворих на основі неврологічного, мануального, інструментального досліджень, оцінювання больового синдрому дає змогу здійснювати ранню діагностику захворювання та динамічний нагляд у процесі лікування залежно від вертебродинаміки.

3. Реабілітаційні заходи із застосуванням кінезіотерапевтичної корекції, оптимізованих технік мануальної терапії сприяють швидшому регресу неврологічних симптомів, відновленню втраченого обсягу рухів у грудному відділі хребта, зменшенню больового синдрому, що дає змогу зменшити ризики загострення впродовж наступного року.

4. Запропонована комплексна методика кінезіотерапії в комбінації з медикаментозним лікуванням достовірно сприяють підвищенню ефективності лікування, реабілітації та покращенню якості життя таких пацієнтів.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні та впровадженні персоналізованої програми реабілітації пацієнтів із дегенеративно-дистрофічною патологією грудного відділу хребта на амбулаторному етапі реабілітації.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Корекція функціонального стану організму пацієнтів засобами медичної реабілітації, фізичної терапії та ерготерапії», державний реєстраційний № 0123U101321 (2023–2028 pp.).

Відомості про авторів:

Алипова О. Є., д-р мед. наук, професор каф фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-5717-6934

Марамуха Є. І., аспірант каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0009-0005-9868-8388

Information about the authors:

Alypova O. Ye., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.
Maramukha Ye. I., Postgraduate Student of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Koziolkina OA, Miedvedkova SO, Liakhova IM, Malakhova SM, Lisova OO, Cherepok OO. Complex treatment of patients with vertebral thoracalgia using manual therapy and physical rehabilitation. Zaporozhye medical journal. 2019;21(5):595-601. doi: 10.14739/2310-1210.2019.5.179421
- Manchikanti L, Knezevic NN, Navani A, Christo PJ, Limerick G, Calodney AK, et al. Epidural Interventions in the Management of Chronic Spinal Pain: American Society of Interventional Pain Physicians (ASIPP) Comprehensive Evidence-Based Guidelines. Pain Physician. 2021;24(S1):S27-S208.
- Shiba H, Kenzaka T. Straight Back Syndrome Presented with Chest and Back Pain: A Case Report. Int Med Case Rep J. 2022;15:611-4. doi: 10.2147/IMCRJ.S385312
- Hiraishi D, Iio K, Hataya H. Chest pain in straight back syndrome. Pediatr Int. 2024;66(1):e15730. doi: 10.1111/ped.15730
- Oliveira CB, Maher CG, Ferreira ML, Hancock MJ, Oliveira VC, McLachlan AJ, et al. Epidural corticosteroid injections for lumbosacral radicular pain. Cochrane Database Syst Rev. 2020;4(4):CD013577. doi: 10.1002/14651858
- Tan H, Elkholy MA, Raslan AM. Combined cervical and thoracic spinal cord stimulation for chronic pain: A systematic literature review. Pain Pract. 2023;23(8):933-41. doi: 10.1111/papr.13264
- Zimmerman J, Allen C. Acute Thoracic Myelopathy. J Orthop Sports Phys Ther. 2020;50(12):723. doi: 10.2519/jospt.2020.9262
- Maisch B, Dörr R. Leitlinien 2021 – im Rückblick der Blick voraus? [Guidelines 2021-is retrospective also a perspective?]. Herz. 2022;47(1):1-3. German. doi: 10.1007/s00059-021-05092-5
- Rigoard P, Ounajim A, Goudman L, Bouche B, Roulaud M, Page P, et al. The Added Value of Subcutaneous Peripheral Nerve Field Stimulation Combined with SCS, as Salvage Therapy, for Refractory Low Back Pain Component in Persistent Spinal Pain Syndrome Implanted Patients: A Randomized Controlled Study (CUMPNS Study) Based on 3D-Mapping Composite Pain Assessment. J Clin Med. 2021;10(21):5094. doi: 10.3390/jcm10215094
- Talutis SD, Ulloa JG, Gelabert HA. Adolescent athletes can get back in the game after surgery for thoracic outlet syndrome. J Vasc Surg. 2023;77(2):599-605. doi: 10.1016/j.jvs.2022.10.002
- Billot M, Naiditch N, Brandet C, Lorgeoux B, Baron S, Ounajim A, et al. Comparison of conventional, burst and high-frequency spinal cord stimulation on pain relief in refractory failed back surgery syndrome patients: study protocol for a prospective randomized double-blinded cross-over trial (MULTIWAVE study). Trials. 2020;21(1):696. doi: 10.1186/s13063-020-04587-6
- Guffey R, Abuirqeba AA, Wolfson M, Fingerman ME, Liu Q, Ohman JW, et al. Erector Spinae Plane Block versus Continuous Perineural Local Anesthetic Infusion for Postoperative Pain Control After Supracervical Decompression for Neurogenic Thoracic Outlet Syndrome: A Matched Case-Control Comparison. Ann Vasc Surg. 2021;77:236-42. doi: 10.1016/j.avsg.2021.05.067
- Kozyolkina O, Medvedkova S, Lisova O. [Manual therapy of vertebral thoracic neurological syndromes]. International neurological journal. 2021;0(5):33-40. Ukrainian. doi: 10.22141/2224-0713.5.107.2019.176704
- Fortner MO, Woodham TJ, Haas JW, Oakley PA, Harrison DE. Failed back surgery syndrome successfully ameliorated with Chiropractic Biophysics® structural rehabilitation improving pain, disability as well as sagittal and coronal balance: a Chiropractic Biophysics® case report with a 6 year follow-up. J Phys Ther Sci. 2024;36(1):44-50. doi: 10.1589/jpts.36.44
- Erdem HR, Koçak FA, Kurt EE, Tuncay F. Superior cluneal nerve entrapment neuropathy due to lower crossed syndrome: A case with low back pain. Agri. 2022;34(4):311-5. English. doi: 10.14744/agri.2020.21703
- Rigoard P, Ounajim A, Goudman L, Louis PY, Slaoui Y, Roulaud M, et al. A Novel Multi-Dimensional Clinical Response Index Dedicated to Improving Global Assessment of Pain in Patients with Persistent Spinal Pain Syndrome after Spinal Surgery, Based on a Real-Life Prospective Multicentric Study (PREDIBACK) and Machine Learning Techniques. J Clin Med. 2021;10(21):4910. doi: 10.3390/jcm10214910
- Ziegler AL, Shannon Z, Long CR, Vining RD, Walter JA, Coulter ID, et al. Chiropractic Services and Diagnoses for Low Back Pain in 3 U.S. Department of Defense Military Treatment Facilities: A Secondary Analysis of a Pragmatic Clinical Trial. J Manipulative Physiol Ther. 2021;44(9):690-8. doi: 10.1016/j.jmpt.2022.03.009
- Hegarty AK, Hsu M, Roy JS, Kardouni JR, Kutch JJ, Michener LA. Evidence for increased neuromuscular drive following spinal manipulation in individuals with subacromial pain syndrome. Clin Biomech (Bristol, Avon). 2021;90:105485. doi: 10.1016/j.clinbiomech.2021.105485
- Chapman KB, Groenen PS, Patel KV, Vissers KC, van Helmond N. T12 Dorsal Root Ganglion Stimulation to Treat Chronic Low Back Pain: A Case Series. NeuroModulation. 2020;23(2):203-12. doi: 10.1111/ner.13047
- Santillan A, Goldberg JL, Carnevale JA, Kimaz S, Hartl R, Knopman J. Anterior spinal artery syndrome caused by thoracic disc herniation. J Clin Neurosci. 2020;77:211-2. doi: 10.1016/j.jocn.2020.05.040
- Ounajim A, Billot M, Louis PY, Slaoui Y, Frasca D, Goudman L, et al. Finite Mixture Models Based on Pain Intensity, Functional Disability and Psychological Distress Composite Assessment Allow Identification of Two Distinct Classes of Persistent Spinal Pain Syndrome after Surgery Patients Related to Their Quality of Life. J Clin Med. 2021;10(20):4676. doi: 10.3390/jcm10204676

22. Makizono T, Uchikado H, Ando T, Kikuchi J, Hattori G, Morioka M. A case of mid-thoracic osteoporotic vertebral fracture with the inability to belch syndrome. *Surg Neurol Int.* 2022;13:458. doi: [10.25259/SNI_839_2022](https://doi.org/10.25259/SNI_839_2022)
23. Rigoard P, Ounajim A, Goudman L, Banor T, Hérroux F, Roulaud M, et al. The Challenge of Converting “Failed Spinal Cord Stimulation Syndrome” Back to Clinical Success, Using SCS Reprogramming as Salvage Therapy, through Neurostimulation Adapters Combined with 3D-Computerized Pain Mapping Assessment: A Real Life Retrospective Study. *J Clin Med.* 2022;11(1):272. doi: [10.3390/jcm11010272](https://doi.org/10.3390/jcm11010272)
24. Volk AM, Mathkour M, Iwanaga J, Dumont AS, Tubbs RS. A Comprehensive Review of Congenital Lumbar Synostosis and Associated Findings. *Cureus.* 2021;13(10):e19013. doi: [10.7759/cureus.19013](https://doi.org/10.7759/cureus.19013)
25. Locher H. Manuelle Medizin, manuelle Therapie : Grundlagen, Wirkmechanismen, Indikationen und Evidenz [Manual medicine, manual treatment : Principles, mode of action, indications and evidence]. *Unfallchirurg.* 2021;124(6):433-45. German. doi: [10.1007/s00113-021-01004-8](https://doi.org/10.1007/s00113-021-01004-8)

The results of many years of complex use of cycle- and power-ergometry in determining the physical capacity of young athletes

M. F. Khoroshukha¹, A. I. Bosenko², Ye. L. Mykhaliuk³, M. M. Filippov⁴

¹Boris Grinchenko Kyiv Metropolitan University, Ukraine, ²The State Institution "South Ukrainian National Pedagogical University named after K. D. Ushynsky", Odessa, ³Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine, ⁴National University of Ukraine on Physical Education and Sport, Kyiv, Ukraine

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

Keywords:

physical endurance, cycle-ergometry, power-ergometry, results, young athletes.

Ключові слова:

фізична працездатність, велоергометрія, power-ергометрія, результати, юні спортсмени.

Надійшла до редакції /
Received: 22.05.2024

Після доопрацювання /
Revised: 13.09.2024

Схвалено до друку /
Accepted: 18.09.2024

Conflicts of interest:

authors have no conflict of interest to declare.

Конфлікт інтересів:

відсутній.

*E-mail:

bosenko@ukr.net

Aim of the work: to assess the results of a complex use of cycle- and power-ergometry in determining the aerobic and anaerobic-aerobic performance in young athletes for the selection of criteria in predicting athletes' sports abilities and performance results at competitions in certain sports.

Materials and methods. Young athletes aged 15–16 (n = 636) took part in the study in which they represented two groups of athletes according to a training process direction: group A (n = 260) – speed-power sports (boxing, freestyle wrestling); group B (n = 376) – endurance sports (athletics, skiing, cycling, swimming). According to the results of their performance at competitions, all athletes were additionally divided into two groups: 1) a group of people who won prize places at competitions in their chosen sports – winners, 2) a group of their peers who unsuccessfully performed at competitions – outsiders. Physical working capacity was determined using two methods: cycle ergometric test PWC₁₇₀ and power-ergometric test PWC₁₇₀. Submaximal ergometric test PWC₁₇₀ (Physical Working Capacity, PWC) is a method based on the determination of physical working capacity (load capacity) upon reaching a heart rate of 170 beats·min⁻¹.

Results. The fact of possible prediction of sports results at competitions of adolescents in sports chosen by them, depending on the nature of changes in indicators of aerobic and anaerobic-aerobic performance PWC₁₇₀, was established. Examples of the performance of young athletes at competitions are given. Statistically significant differences were found in the indicators of aerobic (cycle-ergometry) and anaerobic-aerobic performance (power-ergometry) of athletes-winners and outsiders.

Conclusions. A complex use of cycle- and power-ergometry allows to determine the level of contribution of each type of energy potential separately – aerobic (aerobic performance PWC₁₇₀) and anaerobic-aerobic (anaerobic-aerobic performance PWC₁₇₀) to the general physical working capacity (PWC). In our opinion, the level of aerobic and anaerobic-aerobic performance PWC₁₇₀ (according to PWC index proposed by us) may be one of the criteria in predicting athletes' sports abilities and performance results at competitions in certain sports.

Modern medical technology. 2024;16(4):284-291

Результати багаторічного комплексного використання вело- і power-ергометрії у визначенні фізичної працездатності юних спортсменів

М. Ф. Хорошуха, А. І. Босенко, Є. Л. Михалюк, М. М. Філіппов

Мета роботи – оцінити результати комплексного використання вело- і power-ергометрії у визначенні аеробної та анаеробно-аеробної працездатності юних спортсменів для вибору критеріїв під час прогнозування спортивних здібностей і виступу на змаганнях з окремих видів спорту.

Матеріали і методи. У дослідженні взяли участь юні спортсмени віком 15–16 років (n = 636), яких за спрямованістю тренувального процесу поділили на дві групи: група А (n = 260) – швидко-силові види спорту (бокс, вільна боротьба); група Б (n = 376) – види спорту на витривалість (легка атлетика, лижний спорт, велоспорт, плавання). За результатами виступу на змаганнях усіх спортсменів додатково поділили на дві групи: 1 – група осіб, які отримали на змаганнях з обраних видів спорту призові місця (призери); 2 – група однілків, які не вдало виступили на змаганнях (аутсайтери). Фізичну працездатність визначали за допомогою двох методів: велоергометричного тесту PWC₁₇₀ та power-ергометричного тесту PWC₁₇₀. Субмаксимальний ергометричний тест PWC₁₇₀ (від англ. Physical Working Capacity (PWC) – фізична працездатність) – метод, що ґрунтується на визначенні фізичної працездатності (потужності навантаження) при досягненні частоти серцевих скорочень 170 уд/хв⁻¹.

Результати. Встановлено факт можливого прогнозування спортивних результатів підлітків у виступах на змаганнях з обраних ними видів спорту залежно від характеру змін показників аеробної та анаеробно-аеробної працездатності PWC₁₇₀. Наведено приклади виступу юних спортсменів на змаганнях. Виявлено

статистично значущі відмінності показників аеробної (велоергометрія) та анаеробно-аеробної працездатності (power-ергометрія) спортсменів-призерів (сильна група) та аутсайдерів (слабка група).

Висновки. Комплексне використання вело- і power-ергометрії дає змогу визначити внесок окремо кожного виду енергопотенціалу – аеробного (аеробна працездатність PWC_{170}) та анаеробно-аеробного (анаеробно-аеробна працездатність PWC_{170}) – у загальну фізичну працездатність (PWC). Зробили висновок, що рівень аеробної та анаеробно-аеробної працездатності PWC_{170} (за індексом PWC) може бути одним із критеріїв прогнозування спортивних здібностей спортсменів і результатів виступів на змаганнях з окремих видів спорту.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 284-291

It is well known that physical working capacity is one of the components of somatic health of the population and a necessary attribute of human everyday life, and for athletes, respectively, it is a component of their successful self-realization in a chosen sport [1,2,3,4]. A large arsenal of scientific works by leading experts in the field of physical culture and sports, sports medicine, physical therapy and rehabilitation is devoted to the problem of assessing the physical working capacity of people of different ages, genders and occupations [5,6,7].

However, despite the above, the factor of specificity of the impact of training loads on the body is not sufficiently taken into account when assessing the physical working capacity of athletes [8]. The latter is especially acutely reflected in the issue of conducting a comprehensive selection and staffing of Ukrainian national teams in various sports [9, 10]. In this connection, leading experts emphasize the need to take into account both sex and age peculiarities of physical development of young athletes and characteristics of their physical working capacity and mechanisms of the body energy supply during sports selection.

As noted earlier [11], there are many functional tests in determining physical working capacity, namely: cycle ergometry, treadmill ergometry, step ergometry, etc. These tests mainly use dynamic aerobic loads, which allow determining the level of aerobic performance capacity in athletes according to the value of PWC_{170} . Submaximal ergometric test PWC_{170} (Physical Working Capacity, PWC) is a method based on the determination of physical working capacity (load capacity) upon reaching a heart rate of 170 beats \cdot min⁻¹.

There are also a number of functional tests in determining anaerobic performance. Among them are: the Margaria anaerobic test (running up the stairs at maximum speed); the Wingate anaerobic cycle ergometer test (pedaling on a cycle ergometer at maximum speed and counteracting high resistance for 30 s); speed and power tests (used to determine the maximum mechanical power when performing work on a cycle ergometer or a hand ergometer) [12, 13, 14, 15, 16], etc. However, the above tests cannot a priori diagnose physical working capacity by the value of PWC_{170} . They can only determine the maximum and average anaerobic work capacity for 30 s. Moreover, some of them (e. g., the Margaria anaerobic test) are not considered atraumatic tests.

We have developed a method of power-ergometry (submaximal power-ergometric test PWC_{170}) for determining anaerobic and aerobic performance of power nature in healthy athletes (Patent of Ukraine No. 49417) and people with disorders of the musculo-skeletal system (Patent of Ukraine No. 47969). The method has no analogues in the near and far abroad countries. Testing in the

diagnosis of physical working capacity can be carried out both in athletic training conditions (in gym rooms, on sports grounds, stadiums, etc.) and in laboratory conditions.

In this regard, we introduced into the practice of medical and biological control of young athletes the method of a complex use of cycle-and power-ergometry in determining the physical working capacity [11]. In our opinion, the use of the mentioned methodology will allow to realize the following:

- to diagnose the levels of aerobic and anaerobic-aerobic performance on the basis of PWC_{170} values;
- to estimate the adaptive capability of an athlete's body to the work of different orientation (on strength, speed, endurance);
- to define strong and weak links in body function;
- to objectively manage the educational and training process of athletes.

Aim

To assess the results of a complex use of cycle -and power-ergometry in determining the aerobic and anaerobic-aerobic performance in young athletes for the selection of criteria in predicting athletes' sports abilities and performance results at competitions in certain sports.

Materials and methods

The study involved the young athletes (boys) aged 15–16 (n = 636) from the Brovary Higher School of Physical Education (Kyiv region), who, by a training process direction, represented two groups of athletes: group A (n = 260, average age 15.00 \pm 0.45) – speed and power sports (boxing, freestyle wrestling); group B (n = 376, average age 15.00 \pm 0.47) – endurance sports (athletics: 800, 1500, 3000 and 5000 meters race, skiing, cycling, swimming: 200, 400 and 1500 meters). Sports experience was 3–5 years or more. Many years of research and observation of athletes were conducted in two stages of the annual training cycle: stage one (preparatory) – September – October, respectively, and stage two (precompetitive and competitive) – March – April. Besides that, additional examinations were conducted (2–3 days before the competition), the results of which were compared with similar results of the athletes' performance at competitions.

According to the results of their performance at competitions all athletes were additionally divided into two groups: a group of persons who took prize places – winners at competitions in their chosen sports; a group of their peers who unsuccessfully performed at competitions – outsiders.

Physical working capacity was determined using two methods: submaximal cycle ergometric test PWC_{170} and submaximal power-ergometric test PWC_{170} .

The examinations were carried out in the first half of the day from 9:00 till 13:00 and in the second half of the day from 16:00 till 19:00, i. e. during increased working capacity of human body. The day before the examination, the athletes did not train in the second half of the day. The air temperature during the laboratory testing ranged from +18 °C to +23 °C. All the subjects were familiarized with the content of the tests, the peculiarities of tests conducting, and gave their consent to participate in the research. The determination of physical performance using the method of submaximal cycle-ergometry and power-ergometry PWC_{170} was an integral part of the mandatory set of annual medical examinations (dispensary examinations) of young athletes of the specified school. In total, more than 1,500 human studies were conducted. The results of these studies have not previously been published or submitted to other journals.

The research was conducted on with observance of the basic bioethical provisions of the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine (04.04.1997), the Declaration of Helsinki of the World Medical Association on ethical principles of scientific medical research with the participation of human beings (1964–2008), as well as the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 690 of 23.09.2009.

The results of the conducted research were statistically processed using the package of the standard computer program Statistica 10. Arithmetic mean (X), mean square deviation (SD) and error of the mean (m) were calculated. The probability of group differences between values (p) was assessed by the parametric Student's t -test. The difference was considered statistically probable at the 5 % level of significance (at $p < 0.05$).

The research of aerobic capacity was carried out according to the submaximal cycle ergometric test using the mechanical cycle-ergometer "Monark" (Sweden), accordingly, anaerobic-aerobic capacity – to the power-ergometry method (developer of the method M. Khoroshukha). Mechanical work was determined using a power-ergometer "PE-2" of our own design (r. p. No. 980 of the Ministry of Health of Ukraine). Method of power-ergometry (Patent of Ukraine No. 49417) has no analogues in the near and far abroad countries (*note*: method of conducting cycle-ergometry research and method of conducting power-ergometry research are described in detail in the work [11]).

So-called Index PWC (Physical Working Capacity) offered by us is determined by the formula:

$$\text{Index } PWC = PE_{170} / CE_{170}$$

where PE_{170} – anaerobic-aerobic performance according to power-ergometry test PWC_{170} ;

CE_{170} – aerobic performance according to cycle-ergometry test PWC_{170} .

The assessment of the index (in conditional points) was carried out in the following way:

– 0.60 points and more – level of anaerobic-aerobic performance is high, aerobic performance is low;

– 0.31–0.59 points – balance of anaerobic-aerobic and aerobic performance (conditionally);

– 0.30 points and less – level of aerobic performance is high, anaerobic-aerobic performance is low.

Results

Table 1 presents the results of a comparative analysis of the multi-year-research of physical working capacity in 32 best boxers aged 15–16 who won prize places at competitions (winners) and their peers ($n = 106$) who performed unsuccessfully (outsiders). The data of this table indicate that the boxers-winners had significantly better absolute and relative ($p < 0.001$ in both cases) values of anaerobic-aerobic performance (power-ergometry method) compared to those athletes who performed unsuccessfully at competitions.

However, in the values of aerobic performance (cycle-ergometry method) no statistically significant differences were found between the representatives of the strong (winners) and weak (outsiders) groups of adolescent boxers ($p > 0.05$). PWC index in athletes of the strong group (0.640 ± 0.039 points) was such that it corresponded to a high level of anaerobic-aerobic performance and, accordingly, a low level of aerobic performance. In boxers of the weak group, this index was 0.480 ± 0.041 points, which corresponded to the balance of anaerobic-aerobic and aerobic performance. The differences between these indices are statistically significant ($p < 0.01$).

Almost the same type of changes in indicators of physical working capacity PWC_{170} of both (strong and weak) groups was registered in young wrestlers aged 15–16 (*Table 2*). Like boxers, in wrestlers-winners ($n = 27$) PWC index was such that it corresponded to a high level of anaerobic-aerobic performance (0.690 ± 0.043 points), while in athletes-outsiders ($n = 95$) – to balance of anaerobic-aerobic and aerobic performance (respectively, 0.500 ± 0.052 points). Differences between these indices are also statistically significant ($p < 0.01$).

A comparative analysis of indicators of physical working capacity PWC_{170} of the strong and weak groups of young track-and-field athletes aged 15–16 is specified in *Table 3*. From the data of this table, it can be seen that the winners ($n = 22$) had reliably better absolute and relative ($p < 0.001$ in both cases) values of aerobic performance according to the data of the cycle ergometry test compared to those athletes ($n = 64$) who performed unsuccessfully at competitions. At the same time the values of anaerobic-aerobic performance (power-ergometry method) in two groups of runners did not have statistically significant differences ($p > 0.05$). PWC index in athletes of the strong group (0.220 ± 0.033 points) and weak (0.260 ± 0.037 points) was such that it corresponded to a high level of aerobic performance and, accordingly, a low level of anaerobic-aerobic performance. No statistically significant differences were found between the values of both indices ($p > 0.05$).

The results of a comparative analysis of indicators of physical working capacity PWC_{170} in young bicycle riders aged 15–16 some of whom successfully performed at competitions (winners) with their peers, who took one of the last places (outsiders), are illustrated in *Table 4*. From the data of the table, it follows that in bicycle riders, like runners, who also develop the quality of aerobic endurance, and their physical activity engages the muscles of

Table 1. Indicators of physical performance of PWC₁₇₀ young boxers of 15–16 years old, who performed successfully (winner group) and unsuccessfully (outsider group) at competitions (n = 138), X ± m

Group	n	Power-ergometry method		Cycle-ergometry method		PE ₁₇₀ / CE ₁₇₀ points
		PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	
Winners	32	112.60 ± 2.35	1.70 ± 0.05	172.40 ± 4.07	2.60 ± 0.05	0.640 ± 0.039
Outsiders	106	86.70 ± 2.49	1.30 ± 0.04	176.20 ± 3.84	2.70 ± 0.04	0.480 ± 0.041
Reliability of difference, p		<0.001	<0.001	>0.05	>0.05	<0.01

Table 2. Indicators of physical performance of PWC₁₇₀ young wrestlers of 15–16 years old, who performed successfully (winner group) and unsuccessfully (outsider group) at competitions (n = 122), X ± m

Group	n	Power-ergometry method		Cycle ergometry method		PE ₁₇₀ / CE ₁₇₀ points
		PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	
Winners	27	123.30 ± 2.44	1.80 ± 0.05	178.00 ± 3.97	2.60 ± 0.05	0.690 ± 0.043
Outsiders	95	85.40 ± 2.52	1.30 ± 0.05	170.90 ± 3.76	2.60 ± 0.04	0.500 ± 0.052
Reliability of difference, p		<0.001	<0.001	>0.05	>0.05	<0.01

Table 3. Indicators of physical performance of PWC₁₇₀ young track and field athletes of 15–16 years old, who performed successfully (winner group) and unsuccessfully (outsider group) at competitions (n = 86), X ± m

Group	n	Power-ergometry method		Cycle ergometry method		PE ₁₇₀ / CE ₁₇₀ points
		PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	
Winners	22	49.20 ± 2.43	0.70 ± 0.03	222.80 ± 3.18	3.20 ± 0.05	0.220 ± 0.033
Outsiders	64	47.40 ± 2.44	0.70 ± 0.03	183.20 ± 2.49	2.70 ± 0.04	0.260 ± 0.037
Reliability of difference, p		>0.05	>0.05	<0.001	<0.001	>0.05

Table 4. Indicators of physical performance of PWC₁₇₀ young cyclists of 15–16 years old, who performed successfully (winner group) and unsuccessfully (outsider group) at competitions (n = 103), X ± m

Group	n	Power-ergometry method		Cycle ergometry method		PE ₁₇₀ / CE ₁₇₀ points
		PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	
Winners	28	48.70 ± 2.52	0.70 ± 0.03	225.90 ± 3.31	3.20 ± 0.05	0.220 ± 0.035
Outsiders	75	50.30 ± 2.48	0.70 ± 0.03	202.10 ± 3.54	2.80 ± 0.05	0.250 ± 0.038
Reliability of difference, p		>0.05	>0.05	<0.001	<0.001	>0.05

mainly the lower extremities, the same type of changes in these indicators was noted.

So, adolescents of the strong group (n = 28) had reliably better values of aerobic performance according to the cycle-ergometry test compared to those athletes (n = 75) who performed unsuccessfully at competitions (p < 0.001). At the same time, no probable differences in the values of anaerobic-aerobic performance of power nature (p > 0.05) was established. As would be expected, PWC index in bicycle riders of both groups was consistent with a high level of aerobic performance and a low level of anaerobic-aerobic performance. Also, no statistically significant differences (p > 0.05) were found between the values of PWC indices of both groups. Thus, the winners' index was 0.22 ± 0.035 points, outsiders' – 0.250 ± 0.038 points.

A comparative analysis of indicators of physical working capacity PWC₁₇₀ of both groups of young skiers aged 15–16 (Table 5) showed the following:

1. winners (n = 25) had significantly better values of both aerobic (p < 0.05) and anaerobic-aerobic performance (p < 0.001) compared to outsiders (n = 51);
2. PWC index in skiers of both groups was such that it corresponded to a high level of aerobic performance and a low level of anaerobic-aerobic performance of power nature (on an average of 0.25 points in both groups).

Finally, the results of a comparative analysis of indicators of physical working capacity PWC₁₇₀ in young swimmers aged 15–16, some of whom successfully performed at competitions (winners), and others unsuccessfully performed (outsiders), are

Table 5. Indicators of physical performance of PWC₁₇₀ young skiers of 15–16 years old, who performed successfully (winner group) and unsuccessfully (outsider group) at competitions (n = 76), X ± m

Group	n	Power-ergometry method		Cycle ergometry method		PE ₁₇₀ / CE ₁₇₀ points
		PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	
Winners	25	55.70 ± 2.36	0.80 ± 0.03	222.80 ± 3.42	3.20 ± 0.05	0.250 ± 0.037
Outsiders	51	48.60 ± 2.45	0.70 ± 0.03	194.30 ± 3.54	2.80 ± 0.05	0.250 ± 0.034
Reliability of difference, p		<0.05	<0.05	<0.001	<0.001	>0.05

Table 6. Indicators of physical performance of PWC₁₇₀ young swimmers of 15–16 years old, who performed successfully (winner group) and unsuccessfully (outsider group) at competitions (n = 111), X ± m

Group	n	Power-ergometry method		Cycle ergometry method		PE ₁₇₀ / CE ₁₇₀ points
		PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	PWC ₁₇₀ W	PWC ₁₇₀ W·kg ⁻¹	
Winners	30	129.50 ± 3.36	1.80 ± 0.05	224.70 ± 3.42	3.10 ± 0.05	0.580 ± 0.047
Outsiders	81	98.70 ± 3.49	1.40 ± 0.05	197.50 ± 3.54	2.80 ± 0.05	0.500 ± 0.041
Reliability of difference, p		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.05

Table 7. Comparative analysis of the PWC index in prize-winning athletes and outsiders of groups A and B (n = 636), X ± m

Group	n	Index PWC, points	Group	n	Index PWC, points
Winners (group A)	59	0.660 ± 0.040	Outsiders (group A)	201	0.490 ± 0.042
Winners (group B)	105	0.300 ± 0.033	Outsiders (group B)	271	0.310 ± 0.034
Reliability of difference, p		<0.001	Reliability of difference, p		<0.001

presented in *Table 6*. As can be seen, athletes of the strong group (n = 30) had reliably better values of both aerobic performance determined by cycle-ergometry method (p < 0.001), and anaerobic-aerobic performance by power-ergometry method (p < 0.001) compared to those adolescents (n = 81) who unsuccessfully performed at competitions. PWC index in swimmers of both groups was such that it corresponded to the balance of anaerobic-aerobic and aerobic performance (0.580 ± 0.047 points in winners and 0.500 ± 0.041 in outsiders respectively).

A comparative analysis of the PWC index, as one of the integral indicators of anaerobic-aerobic and aerobic performance of prize-winning athletes and outsiders of both groups, is given in *Table 7*. As expected, statistically significant differences in the PWC index were recorded between the winners and outsiders of groups A and B. Thus, the prize-winning athletes of group A had a high level of anaerobic-aerobic (average statistical values of the PWC index were 0.660 ± 0.040 points) and a low level of aerobic capacity PWC₁₇₀. Prize-winning athletes in endurance sports (group B) are characterized by the PWC index, which reflects a high level of aerobic capacity PWC₁₇₀ and a low level of anaerobic-aerobic capacity (0.30 points and less). Athletes-outsiders mostly had a balance of anaerobic-aerobic and aerobic capacity with a significant difference in their average arithmetic values (from 0.490 ± 0.042 points in representatives of group A to 0.310 ± 0.034 points in group B; p < 0.001).

A characteristic feature of the PWC index of swimmers of both groups (prize winners, outsiders) is that these athletes had

a balance of anaerobic-aerobic and aerobic performance (respectively, 0.580 ± 0.047 points for prize winners and 0.500 ± 0.041 points for outsiders). The identified phenomenon can be explained by the lack of dominance of the upper or lower limbs in providing sports activities.

Discussion

It is generally known that the testing of physical working capacity in the practice of sports, sports medicine and physical rehabilitation occupies one of the leading places in the diagnostics of functional state, assessment of cardiorespiratory reserves of the body and is the basis for managing the educational and training process of athletes. Despite the fact that a large number of scientific works and developments of leading specialists are devoted to this problem, the specificity factor of the influence of training loads of different orientations, as noted earlier, is still insufficiently taken into account enough [2,5,6,13,17].

The results of our previous studies [11], which provided for the integrated use of aerobic and anaerobic-aerobic loads in the diagnostics of physical working capacity, indicate a dual nature of changes in PWC₁₇₀ indices in young athletes at different directions of the training process. The result of this effect was the improvement of one (aerobic or anaerobic-aerobic) type of performance and the deterioration of another. Thus, for high-speed sports the most characteristic was a statistically significant increase in the dynamics of anaerobic-aerobic performance indicators

(according to power-ergometry; $p < 0.001$) and non-significant changes in aerobic performance indicators (respectively, during cycle-ergometry; $p > 0.05$). On the other hand, endurance sports were characterized by a significant increase in aerobic performance indicators ($p < 0.001$) and the non-significant changes in anaerobic-aerobic performance ($p > 0.05$). The results obtained about the special influence of the sport type and training loads are consistent with the data of many authors [8,9,18,19].

The data of the comparative analysis of indicators of physical working capacity PWC_{170} in adolescents aged 15–16 in various sports, some of whom successfully performed at competitions (winners), and others unsuccessfully (outsiders), indicated the fact that it is possible to predict the results of their performance at competitions in a chosen sport, depending on the nature of changes in aerobic and anaerobic-aerobic performance indicators. So, the winners of competitions among boxers and wrestlers (group A – speed-power sports) were those adolescents who had significantly better ($p < 0.001$) values of anaerobic-aerobic performance (power-ergometry method) in comparison with those athletes who performed unsuccessfully at competitions. PWC index in strong group athletes was consistent with a high level of anaerobic-aerobic performance and a relatively low level of aerobic performance.

Accordingly, the winners in endurance sports (group B – runners and cyclists), whose physical load engaged the muscles of mainly the lower extremities, had significantly better values of aerobic performance according to the data of the cycle-ergometry test compared to outsiders ($p < 0.001$). PWC index of the winners corresponded to a high level of aerobic performance.

It is noteworthy that other winners in endurance sports (skiers and swimmers), for whom a physical load engaged the muscles of the arms and legs, had significantly better values of both aerobic and anaerobic-aerobic performance compared to outsiders. It is interesting to note the fact that if the PWC index in skiers of the strong group corresponded to a high level of aerobic performance and a low level of anaerobic-aerobic performance then in swimmers-winners it corresponded to the balance of anaerobic-aerobic and aerobic performance. The above is indisputable evidence of the specific effect of physical exercises on body functions (including physical working capacity) of people of different ages and occupations [18,17,19,20]. In addition, the result of such influence is the acquisition of some and the “loss” of other functions of the body.

In the scientific publications available to us, there is no data on the complex use of bicycle and power-ergometry in determining the physical capacity of young athletes. Therefore, the method proposed by us, as evidenced by the study of works in this direction, is original, that currently limits the possibilities of comparative analysis with the work of other authors.

Below are the examples of a comparative analysis of changes in indicators of physical working capacity PWC_{170} in adolescents specializing in various sports with the results of their performance at competitions.

The first example. Young skier L., 15 years, body weight 68 kg. The research was conducted in two stages. The first stage was in the middle of the preparatory period (September); the second stage – at the end of the pre-competition period (Decem-

ber). The data of physical working capacity of athlete at the first stage: aerobic performance in terms of PWC_{170} (cycle-ergometry method) made up 169.6 W ($2.5 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$), anaerobic-aerobic (power-ergometry method), respectively, – 51.5 W ($0.8 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$). The data of the second stage (after 4 months) of research of physical working capacity are presented as follows: PWC_{170} , which was determined by the cycle-ergometry method, increased by 21.6 % and was equal to 206.7 W ($3.0 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$), while the mentioned indicator, which was registered by the power-ergometry method, increased by only 6.5 % (respectively, 54.4 W and $0.8 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$). At the All-Ukrainian cross-country skiing competition among the children and youth sports schools (CYSS), which was held in January of the following year, an athlete showed a result lower than expected. In our opinion, one of the reasons, why the skier performed poorly at the competition, was a relatively low level of anaerobic-aerobic performance of power nature. After all, it is known that modern ski tracks make great demands on the physical fitness of ski racers. In order to successfully complete a distance with a complex profile and at high speed, the athletes must not only be endurance athletes, but also strong ones. The latter is achieved using weight-bearing exercises (bending and straightening the arms in a push-up position and on parallel bars, climbing a rope without the help of legs, squatting on one or two legs, pulling up on a crossbar, etc.).

The second example. Here we present the results of aerobic and aerobic-anaerobic performance (PWC_{170}) of young track and field athlete, allrounder B., 16 years, according to the data of annual medical examinations that were made in autumn (September–October) and in spring (March–April). The first stage – data of physical working capacity of athlete according to the autumn examination: body weight – 71 kg; aerobic performance according to submaximal cycle ergometry test – 178.7 W ($2.5 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$), respectively, anaerobic-aerobic performance according to submaximal power-ergometry test – 74.0 W ($1.0 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$). Within 2.5 months of the training cycle (Autumn–Spring), due to traumatic injuries of the soft tissues of the knee joint, the athlete was forced to suspend aerobic training (especially, the performance of running loads). However, at the instruction of the coach he continued to persistently perform the strength exercises in an athletic hall. Below are the data of the second stage (after 6 months) of research of allrounder: body weight – 72 kg; physical working capacity according to the PWC_{170} value that was established through the power-ergometry method, increased by 26.6 % and made up 95.5 W ($1.3 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$). While the PWC_{170} indicator, when conducting a cycle ergometry test of the physical working capacity, increased by only 4.5 % (respectively, 190.0 W and $2.6 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$).

The third example. Two 15-year-old wrestlers with a body weight of 68 kg had the same ($2.7 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$) values of aerobic performance determined by the cycle ergometry method. However, they had different values of anaerobic-aerobic performance according to the power-ergometry test. In one athlete, the above-mentioned indicator was equal to $1.1 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$, in the other one, respectively, – $1.4 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$. Difference of PWC_{170} values was $0.3 \text{ W} \cdot \text{kg}^{-1}$. As shown by the results of the control wrestling match for qualifying for the Ukrainian Freestyle Wrestling Championship, the wrestler with a higher level of the physical working capacity of power nature was the best.

The fourth example. Physical working capacity (PWC_{170}) was determined in two swimmers aged 15 by means of cycle- and power-ergometry tests. Tests were conducted in a pre-competition period (April) of the annual training cycle. Here is the data of their physical working capacity. Thus, swimmer C., 1st category (specialization – freestyle swimming, breaststroke), body weight 71 kg, aerobic performance during a submaximal cycling ergometric test made up 218.4 W ($3.1 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$), accordingly, anaerobic-aerobic performance during a submaximal power-ergometric test – 127.6 W ($1.8 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$). Another athlete – swimmer K., 1st category (specialization is the same as in athlete C.), body weight 70 kg, aerobic performance was 95.8 W ($2.8 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$), anaerobic-aerobic performance, respectively – 104.8 W ($1.5 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$). From the above data it is seen that the best values of PWC_{170} in both cases are registered in athlete C. Thus, the difference in values of both aerobic and anaerobic-aerobic performance was equal to $0.3 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$ (in the first case $3.1 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$ against $2.8 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$, in the second case – $1.8 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$ vs. $1.5 \text{ W}\cdot\text{kg}^{-1}$). Higher levels of aerobic and anaerobic-aerobic performance in swimmer C. compared to swimmer K. contributed largely to the achievement by such sportsman of better sports results. He met the standard of a candidate for master of sports in swimming 200 m freestyle and 200 m breaststroke. Thus, the specificity of swimmers' training which is conducted on land and water with the use of physical loads of various kinds (strength, speed, endurance), which (loads) involve the muscles of the upper and lower extremities while exercising, contributes to the achievement of high rates of both aerobic and anaerobic-aerobic performance. The latter is known to have a positive effect on a swimmers' sports result.

Conclusions

1. A complex use of cycle- and power-ergometry allows to determine the level of contribution of each type of energy potential – aerobic (aerobic potential PWC_{170}) and anaerobic-aerobic (anaerobic-aerobic performance PWC_{170}) to the physical working capacity (PWC) as the athlete's potential ability to exhibit submaximal efforts in aerobic (dynamic) and anaerobic-aerobic (static-dynamic) work.

2. The PWC index in prize-winning athletes of speed-power sports (group A) corresponds to a high level of anaerobic-aerobic (0.60 points and more) and a low level of aerobic performance PWC_{170} ; outsider athletes have a balance of anaerobic-aerobic and aerobic capacity. Prize-winning athletes in endurance sports (group B) are characterized by the PWC index, which indicates high level of aerobic capacity PWC_{170} and low level of anaerobic-aerobic capacity (0.30 points and less). In swimmers of both groups (prize-winners, outsiders), the PWC index indicates a balance of anaerobic-aerobic and aerobic performance (respectively, 0.580 ± 0.047 points in prize-winners and 0.500 ± 0.041 in outsiders).

3. The results of the complex use of cycle-ergometry and power-ergometry indicate that the PWC index proposed by us for evaluating the aerobic and anaerobic-aerobic performance of young athletes can be one of the criteria for predicting sports abilities of athletes and the results of performances at competitions in some sports.

Prospects for further research will consist in a scientific substantiation of the potential of a complex use of the cycle- and power-ergometry in determining the physical working capacity of adolescent female athletes.

Gratitude

M. Khoroshukha sincerely thanks M. Filippov for consulting assistance in developing the power-ergometry method.

Funding

The research was carried out on the topics of the research work of the Dragomanov Ukrainian State University: "Medical-biological and valeological health problems of people with different physical conditions", and the State Institution "South Ukrainian National Pedagogical University named after K. D. Ushynsky": "Systemic adaptation to physical and mental loads at individual stages of human ontogenesis".

Information about the authors:

Khoroshukha M. F., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Physical Therapy and Ergotherapy, Borys Grinchenko Kyiv Metropolitan University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-5024-5792

Bosenko A. I., PhD, DSc, Professor of the Department of Physical Rehabilitation, Biology and Health Protection, the State Institution "South Ukrainian National Pedagogical University named after K. D. Ushynsky", Odesa, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-3472-0412

Mykhaliuk Ye. L., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-3607-7619

Filippov M. M., PhD, DSc, Professor of the Department of Medical and Biological disciplines, National University of Ukraine on Physical Education and Sport, Kyiv.

ORCID ID: 0000-0001-5096-7445

Відомості про авторів:

Хорошуха М. Ф., д-р пед. наук, канд. мед. наук, професор каф. фізичної терапії та ерготерапії, Київський столичний університет імені Бориса Грінченка, Україна.

Босенко А. І., д-р пед. наук, канд. біол. наук, професор каф. фізичної реабілітації, біології і охорони здоров'я, ДЗ «Південноукраїнський національний педагогічний університет імені К. Д. Ушинського», м. Одеса, Україна.

Михалюк Є. Л., д-р мед. наук, професор каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Філіппов М. М., д-р біол. наук, професор каф. медико-біологічних дисциплін, Національний університет фізичного виховання і спорту України, м. Київ.

References

1. Dutchak M, Shakhlina L, Futorniy S, Pershehuba I. [Public health: debatable issues, ways of their practical solution]. Sports medicine and physical rehabilitation, 2020;(1):3-9. Ukrainian. doi: 10.32652/spmed.2020.1.3-9
2. Alajmi RA, Foster C, Porcari JP, Radtke K, Doberstein S. Comparison of non-maximal tests for estimating exercise capacity. Kinesiology. 2020;52:10-8. doi: 10.26582/k.52.1.2
3. Ejaz Asghar, Noor Muhammad Marwat, Alamgir Khan, Ishrat Ali Virk, Alia, Habib Ullah, et al. Physical And Psychological Factors Affecting Athlete's Performance. Elementary Education Online. 2020;19(4):5794-802. Available from: <https://ilkogretim-online.org/index.php/pub/article/view/6020>
4. Zenina I, Gavrilova N, Kuzmenko N, Kachalov O. Factors that ensure an adequate level of physical fitness in female students of higher education institutions. Scientific Journal of NPDU. Physical culture and sports. 2022;12:36-9. doi: 10.31392/NPU-nc.series15.2022.12(158).09

5. Dzenzeluk D, Denisuk N, Pantus O, Denysovets A. [Assessment of the functional-reserve capabilities of the cardiovascular system of student youth]. *Scientific Journal of NPDU. Physical culture and sports*. 2023;10:72-7. Ukrainian. doi: [10.31392/NPU-nc.series15.2023.10\(170\).16](https://doi.org/10.31392/NPU-nc.series15.2023.10(170).16)
6. Tsanko II, Antonova-Rafi YV, Kurilo SM, Danko DI. [Examination methods in physical therapy, occupational therapy]. Kyiv: KPI named after Igor Sikorskyi; 2023. Ukrainian.
7. Short TP. The Pursuit of Peak Athletic Performance. *Topics in Exercise Science and Kinesiology*. 2023;4(1):3. Available from: https://digitalscholarship.unlv.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1054&context=scholarship_kin
8. Diachenko A, Rusanova O, Huang Z, Chenging Y. [Characteristics of special work capacity functional support in skilled 1000 m kayakers and canoeists]. *Nauka v olimpiiskom sporte*. 2020;(4):16-23. Ukrainian. Available from: https://sportnauka.org.ua/wp-content/uploads/nvos/articles/2020_4_2.pdf
9. Ieremenko N, Shynkaruk O, Moseychuk Y, Moroz O, Ivashchenko, O, Yarmak O, et al. Analysis of Main Ergometric Parameters of Elite Kayak Athletes Specialized in Different Distance Events. *Sport Mont*. 2021;19(2):59-63. doi: [10.26773/smj.210610](https://doi.org/10.26773/smj.210610)
10. Shynkaruk O, Shutova S, Serebriakov O, Nagorna V, Skorohod O. Competitive performance of elite athletes in modern ice hockey. *Journal of Physical Education and Sport*. 2020;20(1)76:511-6. doi: [10.7752/jpes.2020.s1076](https://doi.org/10.7752/jpes.2020.s1076)
11. Khoroshukha MF, Filippov MM, Bosenko AI, Mykhaliuk YL, Buriak OY. Complex use of cycle- and power-ergometry in determining the physical working capacity of young athletes. *Modern medical technology*. 2023;(4):37-44. doi: [10.34287/MMT.4\(59\).2023.5](https://doi.org/10.34287/MMT.4(59).2023.5)
12. Bringhamst RF, Wagner DR, Schwartz S. Wingate Anaerobic Test Reliability on the Velotron With Ice Hockey Players. *J Strength Cond Res*. 2020;34(6):1716-22. doi: [10.1519/JSC.0000000000002458](https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002458)
13. Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Bdeir A, Fares J, Baydoun H. Physical Testing in Sports Rehabilitation: Implications on a Potential Return to Sport. *Arthrosc Sports Med Rehabil*. 2022;4(1):e189-e198. doi: [10.1016/j.asmr.2021.09.034](https://doi.org/10.1016/j.asmr.2021.09.034)
14. Lunn WR, Axtell RS. Validity and Reliability of the Lode Excalibur Sport Cycle Ergometer for the Wingate Anaerobic Test. *J Strength Cond Res*. 2021 1;35(10):2894-01. doi: [10.1519/JSC.00000000000003211](https://doi.org/10.1519/JSC.00000000000003211)
15. Wood R. Speed and Power Fitness Tests [Internet]. *Topendsports.com*. 2019. Available from: <https://www.topendsports.com/testing/anaerob.htm>
16. Beitia P, Stamatis A, Amasay T, Papadakis Z. Predicting Firefighters' Physical Ability Test Scores from Anaerobic Fitness Parameters & Mental Toughness Levels. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(22):15253. doi: [10.3390/ijerph192215253](https://doi.org/10.3390/ijerph192215253)
17. Aktas S, Cakmakci O. Examination of lower-upper limb of power and force parameters of elite athletes. *Phys Educ Stud*. 2020;24(6):340-7. doi: [10.15561/20755279.2020.0606](https://doi.org/10.15561/20755279.2020.0606)
18. Arıkan Ş, Revan S. The Effect of Bicycle Training Program on Aerobic and Anaerobic Performance. *Turk J Sport Exe*. 2020;22(1):19-23. Available from: <https://dergipark.org.tr/en/pub/tsed/issue/53281/678929>
19. Hammami M, Gaamourı N, Suzuki K, Shephard RJ, Chelly MS. Effects of Upper and Lower Limb Plyometric Training Program on Components of Physical Performance in Young Female Handball Players. *Front Physiol*. 2020;11:1028. doi: [10.3389/fphys.2020.01028](https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01028)
20. Silva AF, Ramirez-Campillo R, Ceylan Hİ, Sarmento H, Clemente FM. Effects of Maturation Stage on Sprinting Speed Adaptations to Plyometric Jump Training in Youth Male Team Sports Players: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Open Access J Sports Med*. 2022;13:41-54. doi: [10.2147/OAJSM.S283662](https://doi.org/10.2147/OAJSM.S283662)

Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies

V. M. Odyntsova¹*, A.E.F., O. Ye. Matsehorova¹ A,B,C,D., S. I. Tertyshnyi¹ A,B,E,F., Yu. F. Polkovnikov¹ A,E,F.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine

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

Keywords:

Myrtus communis L., anatomical structure of leaves, transmission electron microscopy.

Ключові слова:

Myrtus communis L., анатомічна будова листя, трансмісійна електронна мікроскопія.

Надійшла до редакції /
Received: 06.09.2024

Після доопрацювання /
Revised: 13.11.2024

Схвалено до друку /
Accepted: 18.11.2024

Конфлікт інтересів:
ВІДСУТНІЙ.

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

***E-mail:**
odyntsova1505@gmail.com

In the context of war, developing and standardizing new medicinal plants, such as *Myrtus communis* L., can significantly enhance the availability and effectiveness of medicinal products. The micro- and ultramorphological features of the leaf cells of this species could become crucial parameters for their identification and standardization, thereby facilitating the introduction of new, effective medications into practice.

The aim of the work is to study the morphological and anatomical structure and determine the general diagnostic microscopic features of leaves and the structure of meristem cells of common myrtle.

Materials and methods. Microscopic analysis of temporary leaf preparations of *Myrtus communis* L. was carried out using a Carl ZEISS “AxioStar Plus” and “Primo Star” microscopes with a photographic attachment for work in both direct and reflected light. The ultrastructure of leaf cells was additionally studied using transmission electron microscopy methods. Ultra-thin sections, 60 nm thick, were obtained on a Reichert Om 43 ultramicrotome. Sections were contrasted with a 1 % solution of uranyl acetate and lead citrate for 2 minutes in each solution at room temperature. Ultrathin sections were studied using a PEM-100-01 electron microscope at an accelerating voltage of 75 kV.

Results. The external features of common myrtle (*Myrtus communis* L.) leaves are described, including their shape, color, and type of veining. Anatomical features of the leaf include the presence of convoluted epidermal cells, anomocytic stomata located on the abaxial surface of the leaf, calcium oxalate crystals and druses, simple hairs on the midvein, and schizolysigenous secretory receptacles.

The ultrastructure study of common myrtle leaf cells revealed characteristic structural components of various cell types, including a nucleus with a nucleolus, chloroplasts with plastoglobules and starch grains, a Golgi complex with numerous dictyosomes, endoplasmic reticulum, mitochondria, lysosomes, oil droplets, and myrtle characteristic storage inclusions such as amyloplasts.

During electron microscopy, mature secretory receptacles were observed, with visible remnants of cells in the lumen. They are surrounded by cells with a high metabolic rate, as well as senescent cells that appear darker, with low organelle definition and tortuous walls.

Conclusions. The leaves of *Myrtus communis* L. have a hypostomatic leaf type, with the lower epidermis containing a significant number of uniformly arranged stomata of the anomocytic type. Simple unicellular hairs are present only on the central vein. Shared anatomical features with other species in the *Myrtaceae* family include the presence of druses and prismatic calcium oxalate crystals, along with schizogenous secretory receptacles that produce lipophilic substances.

The ultrastructure of meristem cells and cells adjacent to the secretory receptacles in *Myrtus communis* includes cell membrane, cytoplasm, nucleus, mitochondria, vacuoles, chloroplasts, Golgi complex with numerous dictyosomes, endoplasmic reticulum, lysosomes, oil droplets, and amyloplasts, which are starch-storing inclusions characteristic for the species. Mature secretory receptacles were found, within which cell remnants are surrounded by metabolically active cells and senescent, darker cells with poorly defined organelles and convoluted walls.

Recommended parameters for the standardization of *Myrtus communis* L. medicinal plant material: microscopic indicators include the anomocytic type of stomatal apparatus with hypostomatic placement, simple hairs, the presence of druses and prismatic calcium oxalate crystals, and schizogenous secretory receptacles. Ultramorphological indicators include cell membrane, cytoplasm, nucleus with nucleolus, chloroplasts with plastoglobuli and starch granules, Golgi complex with numerous dictyosomes, endoplasmic reticulum, mitochondria, lysosomes, oil droplets, characteristic storage inclusions (amyloplasts), and the presence of secretory receptacles.

Modern medical technology. 2024;16(4):292-302

Мікро- та ультраморфологічні особливості клітин листя *Myrtus communis* L. як параметр стандартизації лікарської рослинної сировини – джерела нових фітопрепаратів

В. М. Одинцова, О. Є. Мацегорова, С. І. Тертишний, Ю. Ф. Полковніков

В умовах війни вивчення та стандартизація нових видів лікарської сировини, зокрема *Myrtus communis* L., можуть істотно покращити доступність та ефективність лікарських засобів. Мікро- й ультраморфологічні особливості клітин листя цього виду можуть стати важливими параметрами для ідентифікації та стандартизації, що сприятиме впровадженню нових ефективних медичних препаратів у практику.

Мета роботи – дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних діагностичних мікроскопічних ознак листя та будови меристемних клітин мирту звичайного.

Матеріали і методи. Мікроскопічний аналіз тимчасових препаратів листя *Myrtus communis* L. здійснили на мікроскопі Carl ZEISS «AxioStar Plus» та «Primo Star» із фотонасадкою для роботи у прямому й відбитому світлі. Ультраструктуру будови клітин листя додатково вивчали, використовуючи методи трансмісійної електронної мікроскопії. Ультратонкі зрізи завтовшки 60 нм одержували на ультрамікротомі Reichert Om 43. Зрізи контрастували 1 % розчином ураніацетату та цитрату свинцю протягом 2 хвилин у кожному розчині за кімнатної температури. Ультратонкі зрізи вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 при прискорювальній напрузі 75 кВ.

Результати. Описано зовнішні ознаки листя мирту звичайного: форму, колір, тип жилкування. Анатомічні особливості листка включають наявність звивистих епідермальних клітин, аномоцитних продихів, що розташовані на абаксальній поверхні листка, кристалів і друзів оксалату кальцію, простих волосків на середній жилці, схізолізогенних секреторних вмістищ. Під час дослідження ультраструктури клітин листя мирту звичайного виявлено характерні структурні компоненти різних типів клітин, що включають ядро з ядерцем, хлоропласти з пластоглобулами та крохмальними зернами, комплекс Гольджі з численними диктіосомами, ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії, лізосоми, краплі олії та характерні для мирту запасні включення – амілопласти. У результаті електронної мікроскопії виявлено зрілі секреторні вмістища, у просвіті яких були залишки клітин. Вони оточені клітинами з високим рівнем метаболізму та клітинами, що старіють, стають темними, з низькою чіткістю органел і звивистими стінками.

Висновки. Листя *Myrtus communis* L. має гіпостоматичний тип листової пластини; нижній епідерміс містить значну кількість рівномірно розташованих продихів з аномоцитним типом продихового апарату. Прості одноклітинні волоски виявлено тільки на центральній жилці. Спільні з іншими видами родини миртових анатомічні особливості – наявність друз і призматичних кристалів оксалату кальцію та схізолізогенних секреторних вмістищ, що продукують ліпофільні речовини. Ультраструктура клітин меристеми та клітин, що прилягають до секреторних вмістищ *Myrtus communis*, включає клітинну мембрану, цитоплазму, ядро, мітохондрії, вакуолі, хлоропласти, комплекс Гольджі з численними диктіосомами, ендоплазматичний ретикулум, лізосоми, краплі олії та характерні для мирту звичайного запасні включення – амілопласти. Виявлено зрілі секреторні вмістища, у просвіті яких містяться залишки клітин, що оточені клітинами з високим рівнем метаболізму та більш темними клітинами, що старіють, із низькою чіткістю органел і звивистими стінками. Рекомендованими параметрами для стандартизації лікарської рослинної сировини *Myrtus communis* L. є мікроскопічні показники, що включають аномоцитний тип продихового апарату з гіпостоматичним розташуванням, прості волоски, наявність друзів і призматичних кристалів оксалату кальцію та схізолізогенних секреторних вмістищ; ультраморфологічні – клітинна мембрана, цитоплазма, ядро з ядерцем, хлоропласти з пластоглобулами і крохмальними зернами, комплекс Гольджі з численними диктіосомами, ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії, лізосоми, краплі олії; характерні для мирту запасні включення – амілопласти та наявність секреторних вмістищ.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 292-302

Under martial law, amid a full-scale Russian invasion, it is crucial to provide aid to the wounded and to strengthen both the physical and mental health of the population, as the ongoing military actions can have a significant negative impact on public health. According to the Ministry of Health of Ukraine, the number of people who will experience negative mental health consequences due to the war is expected to rise daily. Preliminary forecasts suggest that approximately 15 million Ukrainians will need psychological support in the future. Mental disorders can adversely affect physical health, increasing the prevalence of cardiovascular diseases, diabetes, arthritis, asthma, and cancer; in cases of severe trauma, these risks may manifest 10–15 years

earlier than the population average [1]. Therefore, it is crucial to employ simple, effective, and safe medicinal products, with herbal remedies playing an important role.

Treating the wounded during war requires substantial resources, including medications for infection prevention, pain relief, and wound healing. Many medicinal plants possess potent therapeutic properties that can effectively treat various diseases and injuries. Studying these properties and developing new medical preparations from plant-based materials can enhance the effectiveness of medical care. Additionally, the use of plant raw materials can reduce reliance on imported drugs and ensure a steady supply of essential medical supplies.

Common myrtle is a valuable medicinal plant belonging to the myrtle family (*Myrtaceae*). It has two subspecies: *Communis* and *Tarentina*, which differ in their morphological features [2]. Common myrtle (*Myrtus communis* L.) is the only species found in Europe. It is an evergreen shrub, ranging from 0.5 to 6.0 meters in height, characterized by opposite leaves, rough bark, white flowers (with five to nine petals), and berries. Depending on the genotype, these berries can be pigmented (dark blue or dark red) or non-pigmented (white) at the ripening stage, with various shapes such as spherical, elliptical, ovoid, or pear-shaped [3]. Plants with pigmented fruits belong to the melanocarpa variety, while those with non-pigmented fruits are classified as leucocarpa. The melanocarpa variety, which is widely found both in the wild and in cultivation, is commonly used as raw material in the liquor industry [4].

Some characteristics of the myrtle bush, such as its abundant summer flowering, evergreen leaves, persistent fruits, and the presence of multi-colored mutations, make it suitable for decorative use [4].

Various components of *Myrtus communis* leaves have been found to be pharmacologically active. The essential oil from the leaves of *M. communis* has been the subject of numerous chemical and pharmacological studies. It has been established that 1,8-cineole, linalool, and α -pinene are the main components of the essential oil, and they are present in varying quantities in the raw materials from different parts of *Myrtus communis* L., regardless of geographical factors (such as temperature, soil quality, and day length), time of collection, or species genotype [5,6,7].

Myrtle essential oil has antibacterial properties. It can inhibit the formation of biofilms by *Staphylococcus aureus* and disrupt cell biofilm metabolism in all studied strains (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. carotovorum*, *L. monocytogenes*), with the exception of *Staphylococcus aureus*. Additionally, the oil has shown cytotoxic and antiacetylcholinesterase activities [5].

Myrtle essential oils have gained attention as potential ingredients in functional foods and nutraceuticals due to their benefits for weight management, antioxidant status, and antilipidemic effects. This was demonstrated in a study where laurel and myrtle essential oils were administered intragastrically to rats over a period of two weeks. The treatment led to weight loss, reduced glycolytic activity, improved lipid parameters (including cholesterol, triglycerides, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL-C)), and improved indicators of atherogenicity. These effects contribute to the protection of the cardiovascular system [8].

Plant extracts from myrtle berries and leaves have attracted the interest of both consumers and researchers due to their high concentration of phenolic compounds. These compounds are involved in absorbing reactive oxygen species, which helps in the prevention and treatment of various diseases associated with aging [9]. A fraction enriched with polyphenols, obtained from the leaves of *Myrtus communis*, has significant anti-inflammatory, antioxidant, wound healing, and anti-leukemic potential [10]. Therefore, myrtle herbal preparations could offer a new, effective, and safe alternative to current treatment methods.

Proper standardization is crucial for determining the quality of medicinal plant raw materials, especially considering the diver-

sity in myrtle's geographical distribution, environmental growth conditions, availability of chemotypes, and varieties [3,4,11]. In addition to evaluating the phytochemical quality indicators of plant raw materials and the pharmacological actions of phytochemicals derived from them, it is essential for pharmacognostic studies to understand the morphological and anatomical characteristics of plants used as medicinal raw materials. This knowledge aids in the standardization and quality control of the product, ensuring the effectiveness and safety of medicines.

The presence of secretory receptacles containing essential oil is a defining feature of the *Myrtaceae* family [12,13]. These secretory receptacles produce compounds that protect plants from herbivores and pathogenic microorganisms. The structure and development of the secretory cavities in *Myrtus communis* L. have been studied in both young and mature leaves using light and scanning electron microscopes [14,15,16]. Additionally, the flowers of *Myrtus communis* L. are also rich in essential oil secretory receptacles, which are distributed across all floral organs (sepals, petals, corolla, stamens, ovary, and leaf). In the flowers of *Myrtus communis*, unicellular papillae located at the top of the ovary, closer to the base of the stamens, and hairy trichomes have also been identified [17].

Cleber J. da Silva, Luiz Cláudio de A. Barbosa, and colleagues analyzed the frequency and determined the morphological types of secretory receptacles using light and scanning electron microscopy in 52 species of the *Myrtaceae* family. Conical secretory receptacles were observed in three tribes (*Leptospermeae*, *Myrteae*, and *Melaleuceae*), while the euryform type was found in five tribes (*Leptospermeae*, *Syncarpieae*, *Myrteae*, *Syzygieae*, and *Melaleuceae*) [18]. The ultrastructure of secretory receptacle cells in flowers was described by Rafael R. Pimentel, Natália P. Barreira, and others using light and electron microscopy. These cells feature a well-developed smooth endoplasmic reticulum, dictyosomes with adjacent vesicles, numerous mitochondria, and starch-containing plastids [19].

Determination of morphology and anatomy of the vegetative parts of plants is crucial for their identification and classification, as well as for evaluating the quality of medicinal raw materials. However, the ultrastructural features of common myrtle cells have not yet been thoroughly studied. This information could be critically important for the accurate identification and utilization of new types of plant raw materials, especially in wartime conditions.

Aim

The aim of the work is to study the morphological and anatomical structure and determine the general diagnostic microscopic features of leaves and the structure of meristem cells of common myrtle.

Materials and methods

The object of the research is fresh and dried plant material of common myrtle grown under controlled conditions at the Department of Pharmacognosy, Pharmacology, and Botany of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. Microscopic research was conducted in the Phytochemical Laboratory



Fig. 1. Appearance of *Myrtus communis* L. leaves.

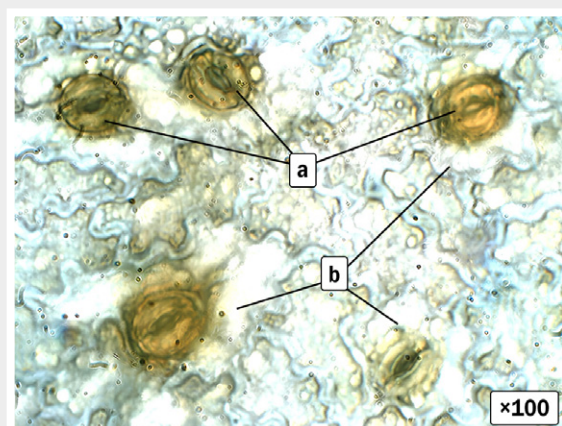
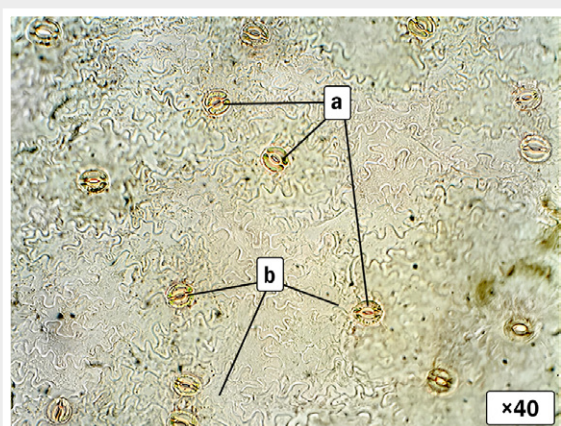


Fig. 2. Fragment of the lower epidermis of the leaf. **a:** stomata; **b:** near stomatal cells.

of the Educational and Scientific Medical and Laboratory Center with a vivarium at Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. Illumination of the microscopic preparations involved heating the samples for 2–3 minutes in a 3–5 % aqueous solution of sodium hydroxide, avoiding excessive softening. After heating, the material was washed 2–3 times with distilled water, and then a microscopic specimen was prepared [20,21].

Carl ZEISS “AxioStar Plus” and “Primo Star” microscopes (objectives $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$) with an AxioCam ERc 5s digital camera were used for observations in both direct and reflected light. Anatomical studies were conducted with statistically significant sample sizes (at least 10 specimens per object). During the microscopic examination of medicinal plant raw materials, attention was given to the type of leaf plate, the structure of epidermal cells, the presence and type of stomata, as well as the characteristics of hairs and glands. To identify the localization of the essential oil, a histochemical reaction was performed with Sudan III solution, which stains the receptacles in an orange-red color.

Object counts per unit area were conducted with tenfold replication. Statistical analysis was performed using Microsoft Excel 2010 software.

The ultrastructure of leaf cell structures was further examined using transmission electron microscopy methods in the Electron

Microscopy Laboratory of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, on a transmission electron microscope “PEM-100-01” (Selmi, Ukraine) at an accelerating voltage of 75 kV. Plant material chopped into 2×3 mm fragments, was fixed in a 2.5 % solution of glutaraldehyde prepared in a 0.1 M phosphate buffer, with the addition of acrolein at a final concentration of 1 %. The inclusion of acrolein was necessary due because of the insufficient and slow penetration of the fixative containing only glutaraldehyde through the leaf epidermis. Acrolein, which penetrates more deeply and reacts faster than other aldehydes, improves the preservation of ultrastructural details when used in combination with glutaraldehyde fixatives [22]. The time between sample preparation and electron microscopic examination was up to 5 minutes, and fixation was performed for 4 hours at $+40$ °C.

After washing the fixative three times with 0.1 M phosphate buffer, the material was treated for 6 hours in a 1 % solution of OsO_4 in 0.1 M phosphate buffer. The plant material was then washed through a series of increasing concentrations of alcohol, starting from 30 % to 96 %, with each concentration processed at room temperature for 15 minutes. Subsequent processing involved treatment with a solution of 100 % alcohol-acetone in successive ratios (3:1, 1:1, and 1:3) for 15 minutes each. The final dehydration step consisted of two 20-minute treatments in

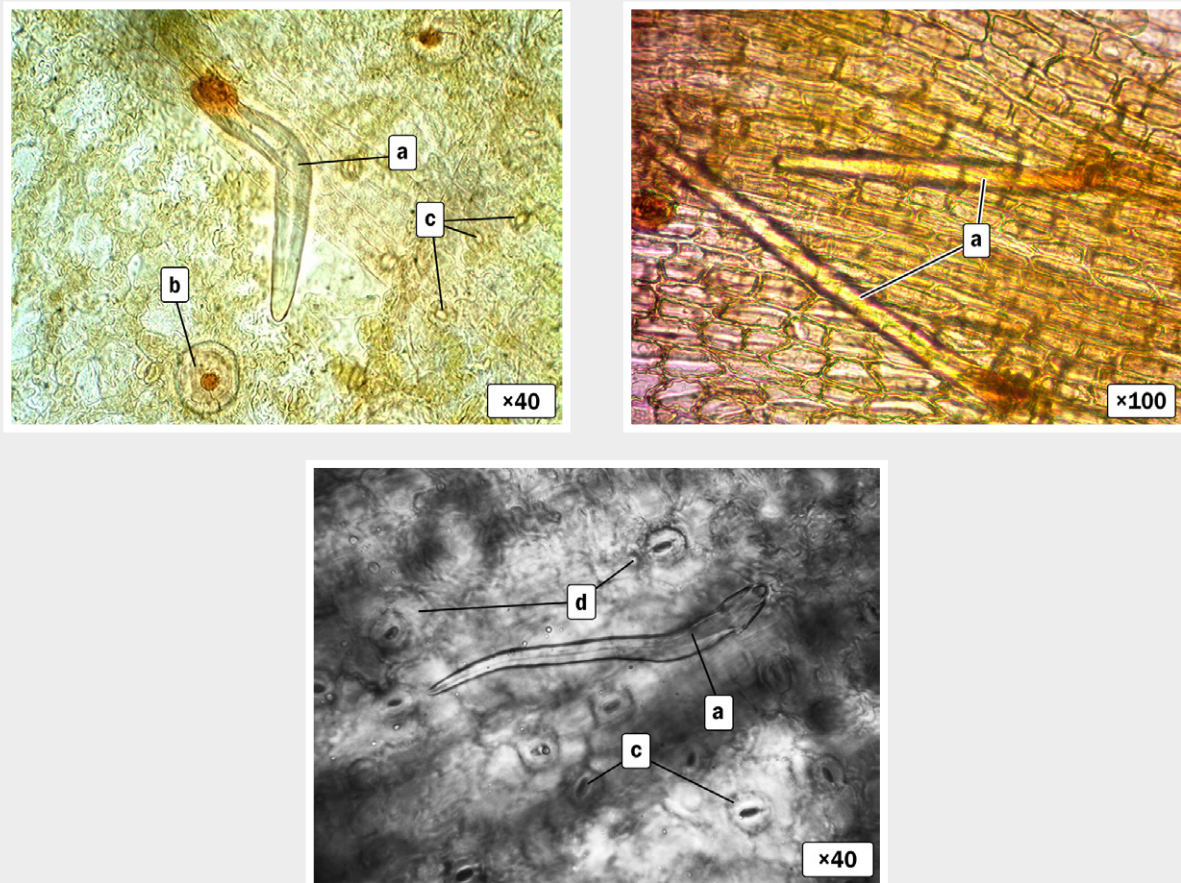


Fig. 3. Fragment of the epidermis of the middle vein of a leaf. **a:** trichomes; **b:** secretory container; **c:** stomata; **d:** near stomatal cells.

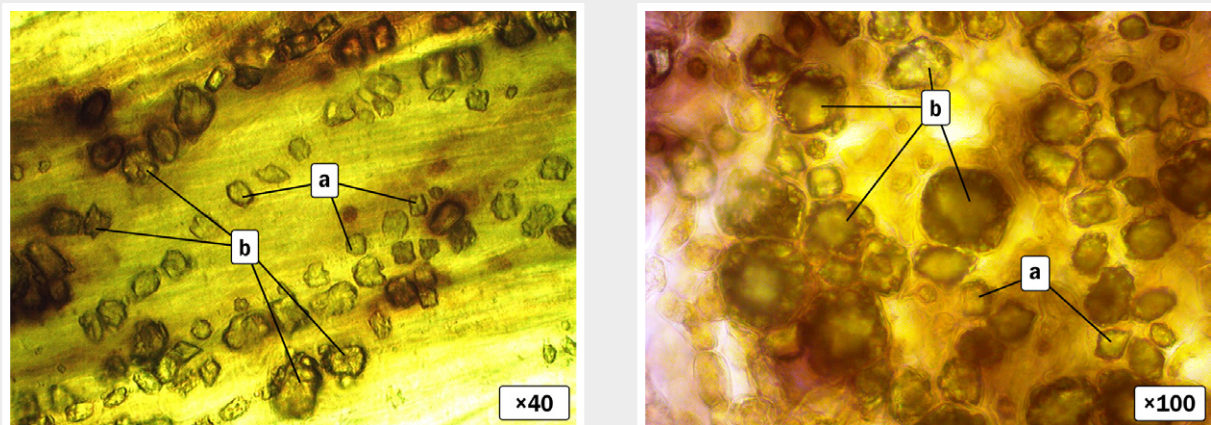


Fig. 4. Drusen and calcium oxalate crystals. **a:** calcium oxalate crystals; **b:** calcium oxalate drusen.

pure acetone. For embedding, the material was infiltrated with epoxy resin (Epon), ensuring proper composition, sequence, and duration of processing according to the resin's specifications [23].

Ultrathin sections, each 60 nm thick, were prepared using a Reichert Om 43 ultramicrotome. The sections were contrasted with a 1 % solution of uranyl acetate and lead citrate, each for 2 minutes at room temperature. These ultrathin sections were then examined with a PEM-100 electron microscope, operating at an accelerating voltage of 75 kV. The microstructure of the leaf cells

was described using the terminology summarized by Byung-Ho Kang et al. [24].

Results

The leaves of *Myrtus communis* L. are simple, opposite, and either sessile or slightly sessile. They are lanceolate, elliptical or ovoid in shape (Fig. 1). The apex of the leaves is pointed, while the base ranges from acute to rounded. The leaves feature

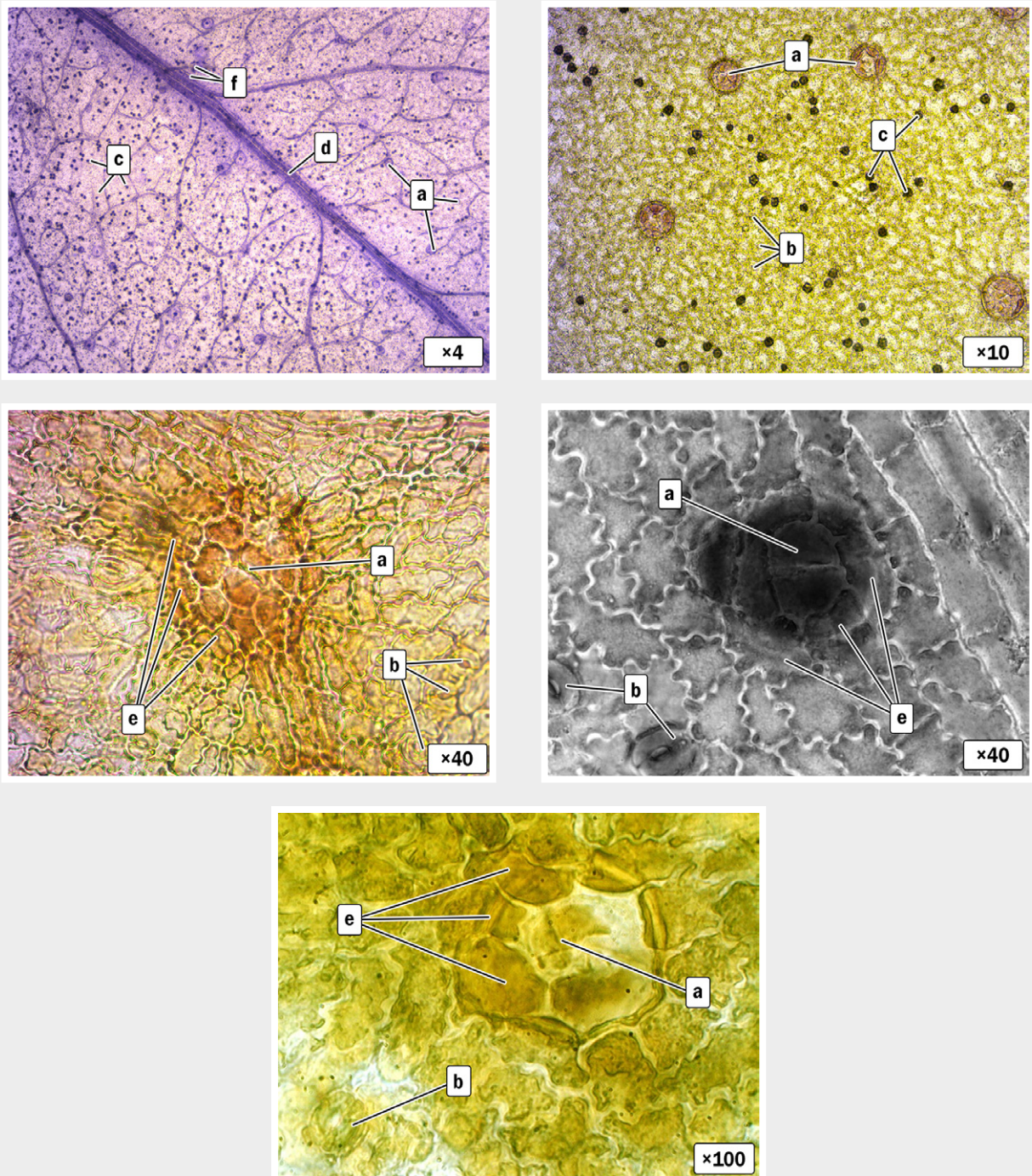


Fig. 5. Schizolysigenous secretory receptacles. **a:** schizolysigenous secretory receptacle; **b:** stomata; **c:** calcium oxalate drusen; **d:** central vein; **e:** epithelial cells located above the receptacles; **f:** trichomes.

numerous secondary and tertiary net veins with brochidromous (pinnate-loop-like) venation. Although the venation is not very prominent on the exterior, there is a noticeable depression just above the midvein. The upper surface of the leaves is dark green, whereas the lower surface is a lighter green.

During the microscopic study, surface micropreparations of various parts of the leaf plate, specifically the upper and lower epidermis, were examined. Myrtle leaves are hypostomatic, with

stomatal complexes that are anomocytic and evenly distributed on the abaxial surface at a density of 228 ± 73 units/mm². These stomatal complexes are oval to round in shape and are surrounded by 3 to 5 epidermal cells (Fig. 2).

The abaxial surface of the leaf consists of convoluted epidermal cells. The epidermis on the upper side of the leaf plate features strongly tortuous, thickened walls. The cells are either isodiametric or slightly elongated in shape. On the midvein of

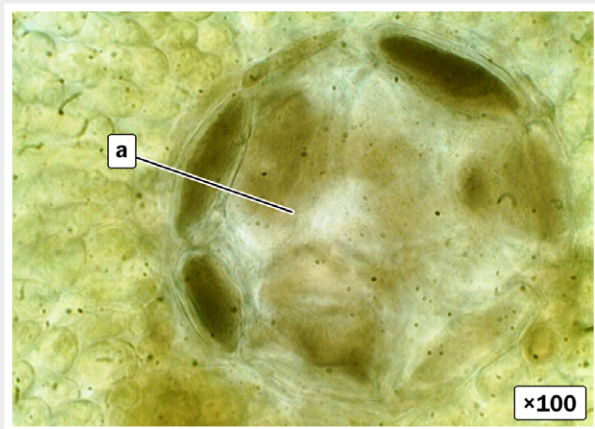
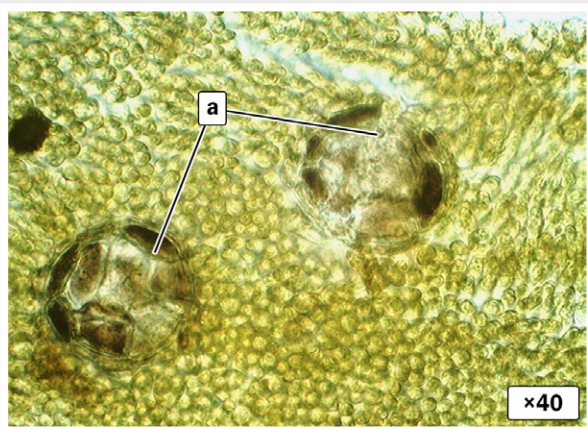


Fig. 6. Idioblasts with resinous oil content. **a:** idioblast.

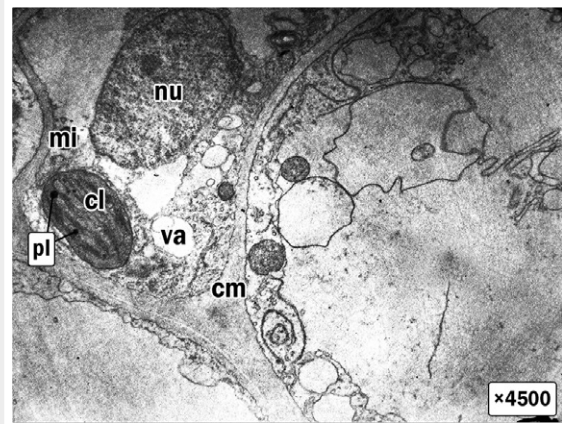
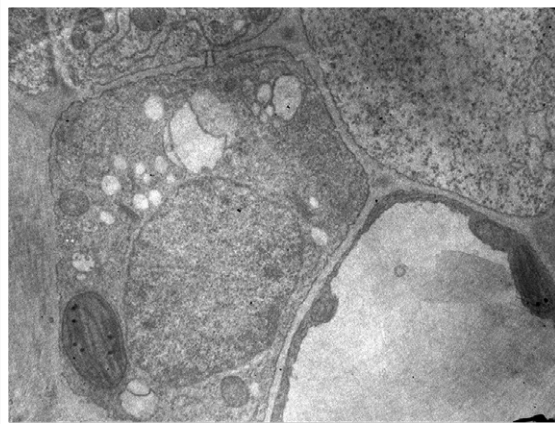


Fig. 7. Transmission electron microscopy image of meristem cells of common myrtle. **nu:** nucleus; **va:** vacuole; **mi:** mitochondrion; **cl:** chloroplast; **cm:** cell membrane; **im:** intercellular; **pl:** plastoglobules.

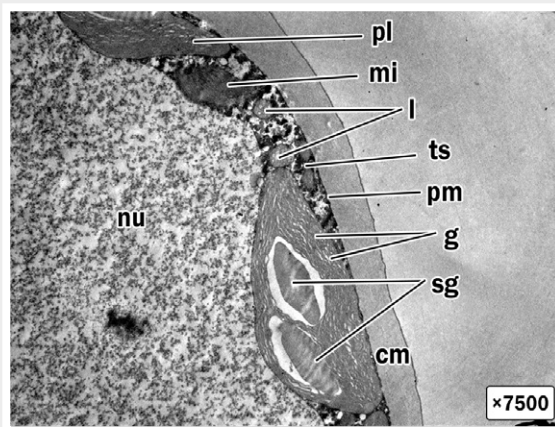


Fig. 8. Transmission electron microscopy image of common myrtle meristem cells with chloroplasts containing starch grains. **nu:** nucleus; **ts:** cytoplasm; **va:** vacuole; **mi:** mitochondrion; **cl:** chloroplast; **cm:** cell membrane; **pm:** plasma membrane; **l:** lysosomes; **g:** face; **pl:** plastoglobule; **sg:** starch grains.

the abaxial surface, there are a few scattered trichomes. These trichomes are simple, unicellular, non-glandular hairs that are conical, slightly wavy, and single (Fig. 3).

The leaf of common myrtle contains a significant amount of crystalline calcium oxalate inclusions, which are represented by

both drusen and prismatic crystals. These inclusions are distributed across the entire surface of the leaf plate at a density of 144 ± 49 units/mm² (Fig. 4).

In the mesophyll of the leaf, spherical secretory receptacles are present, displaying a typical schizolysigenous pattern (Fig. 5).

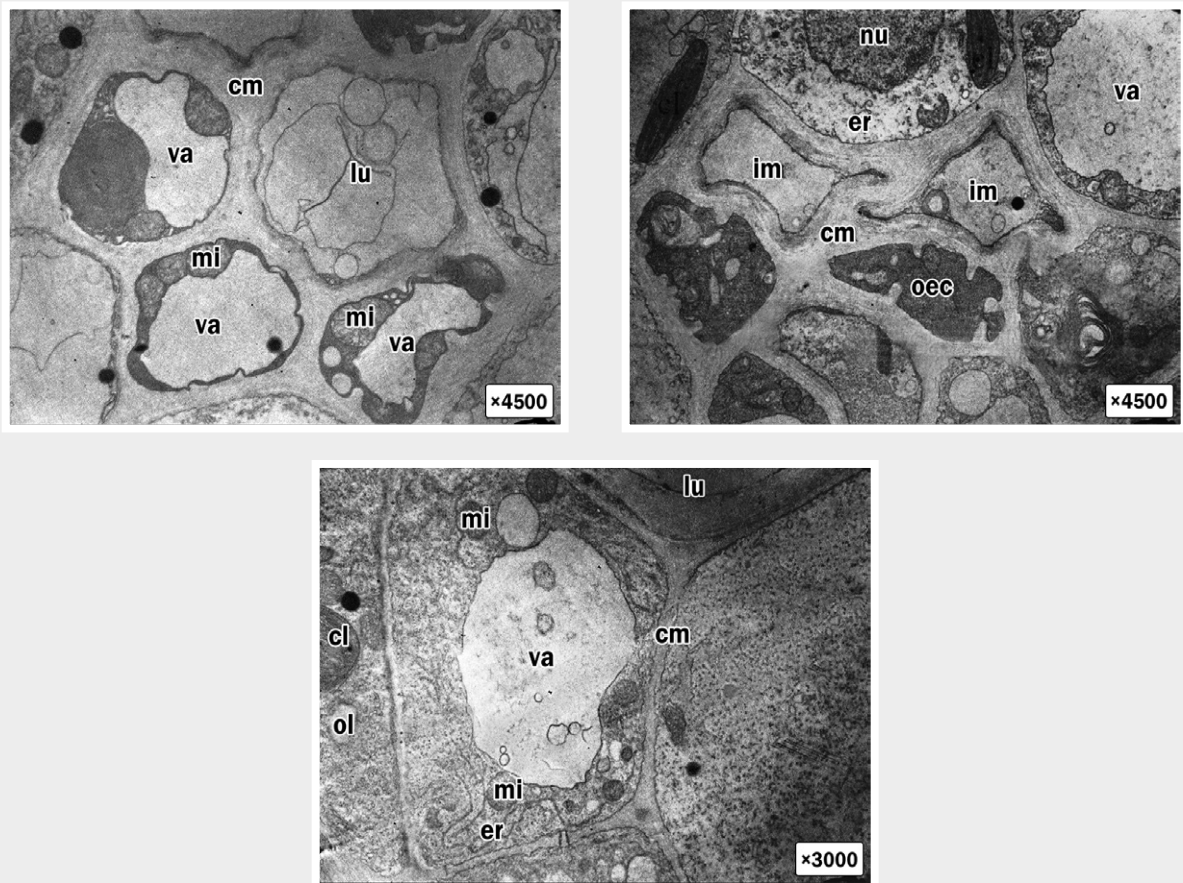


Fig. 9. Transmission electron microscopy image of common myrtle epithelial cells in contact with the secretory container. **nu**: nucleus; **va**: vacuole; **mi**: mitochondrion; **cl**: chloroplast; **im**: intercellular; **cm**: cell membrane; **lu**: lumen; **oec**: senescent epithelial cells; **ol**: drops of oil; **er**: endoplasmic reticulum.

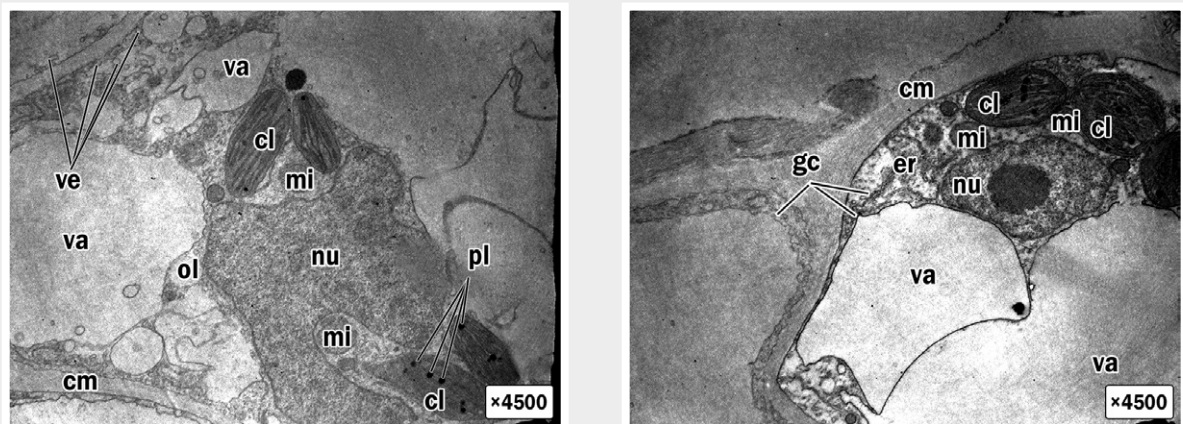


Fig. 10. Transmission electron microscopy image of common myrtle parenchyma cells in contact with the secretory container. **nu**: nucleus; **va**: vacuole; **mi**: mitochondrion; **cl**: chloroplast; **cm**: cell membrane; **ve**: vesicles; **gc**: Golgi complex; **ol**: drops of oil; **pl**: plastoglobule; **er**: endoplasmic reticulum.

The presence of epithelial cells surrounding these cavities indicates that their development is schizogenic, involving cell division rather than dissolution, which characterizes the lysigenous type. Histochemical testing with Sudan III reveals that the secretory receptacles of *Myrtus communis* primarily produce lipophilic compounds. The specific density of secretory receptacles per

unit area is 5 ± 1 units per mm^2 . In addition to the essential oil containers, dark brown idioblasts containing resinous oil are also present (Fig. 6).

When studying the ultrastructure of common myrtle leaf cells, characteristic structural components of various cell types were identified. The ultrastructure of typical meristematic cells

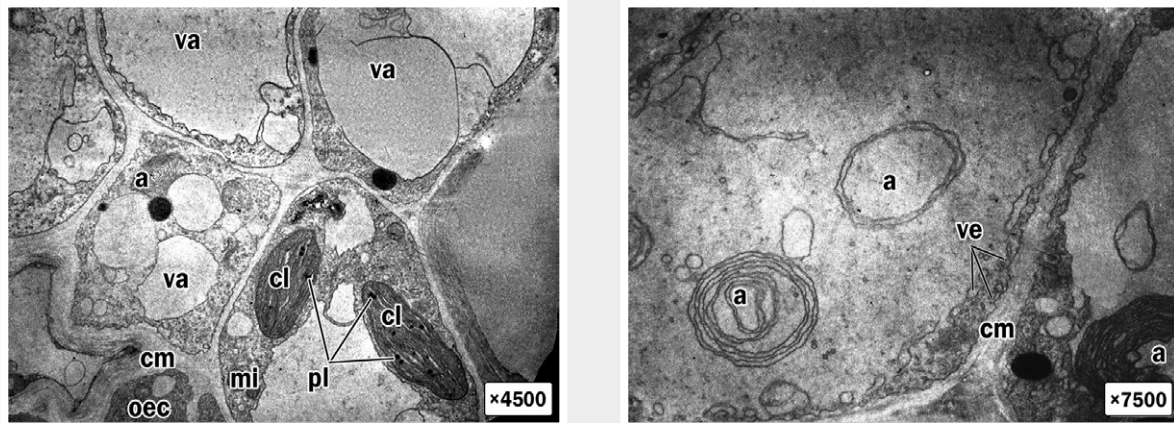


Fig. 11. Transmission electron microscopy image of common myrtle cells containing spare inclusions – amyloplasts. **a:** amyloplasts; **va:** vacuole; **mi:** mitochondrion; **cl:** chloroplast; **cm:** cell membrane; **ve:** vesicles; **pl:** plastoglobule; **oec:** senescent epithelial cells.

in common myrtle is characterized by very thin walls (Fig. 7), which merge to form small intercellular spaces in the central region. Each meristematic cell contains a prominent nucleus with a nucleolus. The cytoplasm is rich in polyribosomes, mitochondria, and Golgi complexes with numerous dictyosomes, from which many vesicles are formed. Vacuoles are small and contain membranes or electron-dense bodies. Additionally, smooth and rough endoplasmic reticulum, lysosomes, oil droplets, and plastids are present. Plastids, specifically chloroplasts, are spherical or oval in shape (Fig. 8). Like the nucleus and mitochondria, chloroplasts are surrounded by a double membrane. The internal environment, or stroma, is a protein matrix permeated by membranes known as lamellae. These lamellae are interconnected to form thylakoids. Thylakoids, tightly adhered to each other, create facets within the chloroplast. The chloroplasts also contain lipid droplets called plastoglobules, and excess carbohydrates produced during photosynthesis can be stored as starch grains.

During electron microscopy, mature secretory receptacles were found, in the lumen of which remnants of cells are visible (Fig. 9). During the secretory process, high metabolic epithelial cells and senescent signaling cells are found side by side in the same epithelium. Senescent epithelial cells have loose convoluted walls and a retracted protoplast. The cytoplasm of such cells becomes very dark and retracts, and the visualization of organelles becomes impossible. These changes end with protrusion of the degenerated epithelial cell into the lumen or cell fragmentation.

The membranes of the parenchyma cells surrounding the secretory receptacles are characterized by thicker walls. These cells contain an oval or irregularly shaped nucleus with distinct nucleoli and a substantial amount of cytoplasm, which includes both small and large vacuoles (Fig. 10). The cells also feature typical chloroplasts, mitochondria with well-developed cristae, oil droplets, and numerous vesicles near the plasma membrane. The cells are tangentially elongated. A distinctive feature of common myrtle leaf cells is the presence of spare inclusions called amyloplasts, located in the cytoplasm (Fig. 11). These amyloplasts

are simple, concentric, round or oval-shaped starch grains, characterized by well-defined layering and a central formation in the shape of a circle or point.

Discussion

Although *Myrtaceae* species are rich in essential oils and other chemical compounds, detailed information on the leaf anatomy of *Myrtus communis* L. is scarce. The results of this study reveal that *Myrtus communis* L. shares several anatomical features with other species in the family. These features include drusen (calcium oxalate crystals) and schizolysigenous secretory receptacles. The secretory receptacles develop from single cells, initially originating schizogenically but ultimately becoming lysogenic during maturation, leading to the disintegration of all secretory cells within the gland lumen [14,15,25].

In addition to the genetically determined characteristics common to the family, *Myrtus communis* exhibits specific anatomical and ultrastructural features that may be linked to its environmental origin and reflect various survival strategies [17,26].

It was determined that the epidermal cells have a tortuous shape, and the leaves are equipped with trichomes in the form of simple hairs scattered on the abaxial surface of the midvein. The stomata are anomocytic and hypostomatic, located on the abaxial side of the leaf blade. This evolutionary adaptation allows the plant to better control water loss and gas exchange, protecting the leaves from environmental stressors [27]. For common myrtle, which grows in Mediterranean regions with high solar activity, this adaptation is particularly important for maintaining water balance and supporting optimal physiological processes.

In addition, some ultrastructural features of chloroplasts and other organelles may reflect adaptations to high solar radiation conditions. For instance, the presence of large and bulky starch grains in chloroplasts could be indicative of more intensive photosynthesis. The abundance of plastoglobules observed in the chloroplasts of the mesophyll in *Myrtus communis* L. may be related to oxidative stress, which could help the plant cope with high levels of insolation [28].

Starch grains and oil droplets in the cells of *Myrtus communis* L. probably represent an energy reserve. This strategy provides an uninterrupted source of energy for synthesis and secretion of essential oil.

Electron micrographs illustrate the features of meristem cells and the presence of secretory receptacles. Young meristem cells are characterized by dense cytoplasm and a large number of organelles, including a nucleus with a nucleolus, plastids, a Golgi complex with numerous dictyosomes, endoplasmic reticulum, and mitochondria. As cells mature, vesicles fuse with vacuoles or plasma membrane, which becomes noticeably tortuous and thickened. Plastids become less numerous, exhibiting dense stroma and large starch grains. These plastids, with their well-developed internal membranes and starch grains, facilitate photosynthesis and provide the energy required for the biosynthesis of secretory compounds, as observed in glandular trichomes of various species [29].

The secretory receptacles feature a well-developed parenchyma shell with thicker cell walls and initial signs of cell degradation, such as nuclear fragmentation and mitochondrial proliferation. Dictyosomes are well developed and produce several vesicles visible in the peripheral cytoplasm near the convoluted plasma membrane. In addition, vacuoles containing secretions form and fuse with the plasma membrane in a continuous process of vacuole formation and essential oil release, similar to the process described by M. O. Mercadante-Simões and E. A. S. Paiva [30].

Based on ultrastructural studies of mature cavities, several indicators of cell senescence have been identified. These include cells with dark cytoplasm and reduced clarity of organelles, swollen membranes, nuclei with irregular contours and vesiculation, tortuous cell walls, and loss of contact with neighboring cells. These features correspond to with programmed cell death and represent a natural aspect of plant development [31].

Common myrtle leaf cells are distinguished by the presence of spare inclusions known as amyloplasts. The structural characteristics of these amyloplasts are species-specific and are valuable for comparative anatomical analysis of medicinal plants and their raw materials.

These data can be used for identification of medicinal plant raw materials of common myrtle and contribute to the development and implementation of promising phytopreparations based on *Myrtus communis* L. into medical practice.

Conclusions

1. The leaves of *Myrtus communis* L. have a hypostomatic leaf type, with the lower epidermis containing a significant number of uniformly arranged stomata of the anomocytic type. Simple unicellular hairs are present only on the central vein. Shared anatomical features with other species in the *Myrtaceae* family include the presence of druses and prismatic calcium oxalate crystals, along with schizogenous secretory receptacles that produce lipophilic substances.

2. The ultrastructure of meristem cells and cells adjacent to the secretory receptacles in *Myrtus communis* includes cell membrane, cytoplasm, nucleus, mitochondria, vacuoles, chloroplasts, Golgi complex with numerous dictyosomes, endoplasmic

reticulum, lysosomes, oil droplets, and amyloplasts, which are starch-storing inclusions characteristic for the species. Mature secretory receptacles were found, within which cell remnants are surrounded by metabolically active cells and senescent, darker cells with poorly defined organelles and convoluted walls.

3. Recommended parameters for the standardization of *Myrtus communis* L. medicinal plant material: microscopic indicators include the anomocytic type of stomatal apparatus with hypostomatic placement, simple hairs, the presence of druses and prismatic calcium oxalate crystals, and schizogenous secretory receptacles. Ultramorphological indicators include cell membrane, cytoplasm, nucleus with nucleolus, chloroplasts with plastoglobuli and starch granules, Golgi complex with numerous dictyosomes, endoplasmic reticulum, mitochondria, lysosomes, oil droplets, characteristic storage inclusions (amyloplasts), and the presence of secretory receptacles.

Prospects for further research are to continue pharmacognostic studies of *Myrtus communis* L. leaves.

Information about the authors:

Odyntsova V. M., PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-7883-8917](https://orcid.org/0000-0002-7883-8917)

Matsehorova O. Ye., Postgraduate student of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: [0009-0002-7912-1392](https://orcid.org/0009-0002-7912-1392)

Tertyshnyi S. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-3856-4234](https://orcid.org/0000-0003-3856-4234)

Polkovnikov Yu. F., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: [0009-0000-0680-9730](https://orcid.org/0009-0000-0680-9730)

Відомості про авторів:

Одинцова В. М., д-р фарм. наук, професор каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Мацегорова О. Є., аспірант каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Тертишний С. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Полковников Ю. Ф., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

References

1. Meleha KP. Zdrov'iazbezrehzhuvalni stratehii z vykorystanniam likarskykh roslin dlia uchasnykiv osvithnoho protsesu v umovakh voiennoho stanu [Health-preserving strategies with the use of medicinal plants for participants in the educational process under martial law]. In: [Modern aspects of preserving human health]. Proceedings of the 14th international interdisciplinary scientific and practical conference; 2023 Apr 21-22; Uzhhorod, Ukraine; 2023. p. 34-6. Ukrainian.
2. Giuliani C, Moretti R M, Bottoni M, Santagostini L, Fico G, Montagnani M M. The Leaf Essential Oil of *Myrtus communis* subsp. *tarentina* (L.) Nyman: From Phytochemical Characterization to Cytotoxic and Antimigratory Activity in Human Prostate Cancer Cells. *Plants* (Basel, Switzerland). 2023;12(6):1293. doi: [10.3390/plants12061293](https://doi.org/10.3390/plants12061293)
3. González-de-Peredo AV., Vázquez-Espinoza M, Espada-Bellido E, Ferreiro-González M, Amores-Arocha A, Palma M, et al. Discrimination of

- Myrtle Ecotypes from Different Geographic Areas According to Their Morphological Characteristics and Anthocyanins Composition. *Plants* (Basel, Switzerland). 2019;8(9):328. doi: [10.3390/plants8090328](https://doi.org/10.3390/plants8090328)
4. Medda S, Fadda A, Mulas M. Selection for ornamental purposes of 'Angela' myrtle (*Myrtus communis* L.) cultivar with unpigmented fruit. *Sustainability*. 2022;14(20):13210. doi: [10.3390/su142013210](https://doi.org/10.3390/su142013210)
 5. Caputo L, Capozzolo F, Amato G, De Feo V, Fratianni F, Vivencio G, et al. Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic, and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC Complement Med Ther*. 2022;22(1):142. doi: [10.1186/s12906-022-03583-4](https://doi.org/10.1186/s12906-022-03583-4)
 6. Giuliani C, Bottoni M, Milani F, Toderò S, Berera P, Maggi F, et al. Botanic Garden as a Factory of Molecules: *Myrtus communis* L. subsp. *communis* as a Case Study. *Plants* (Basel). 2022;11(6):754. doi: [10.3390/plants11060754](https://doi.org/10.3390/plants11060754)
 7. Shahbazian D, Karami A, Raouf Fard F, Eshghi S, Maggi F. Essential Oil Variability of Superior Myrtle (*Myrtus communis* L.) Accessions Grown under the Same Conditions. *Plants* (Basel). 2022;11(22):3156. doi: [10.3390/plants11223156](https://doi.org/10.3390/plants11223156)
 8. Odeh D, Oršolić N, Berendika M, Đikić D, Domjanić Drozdek S, Balbino S, et al. Antioxidant and Anti-Atherogenic Activities of Essential Oils from *Myrtus communis* L. and *Laurus nobilis* L. in *Rat. Nutrients*. 2022;14(7):1465. doi: [10.3390/nu14071465](https://doi.org/10.3390/nu14071465)
 9. Cruciani S, Garroni G, Ginesu G C, Fadda A, Ventura C, Maioli M. Unravelling Cellular Mechanisms of Stem Cell Senescence: An Aid from Natural Bioactive Molecules. *Biology*. 2020;9(3):57. doi: [10.3390/biology9030057](https://doi.org/10.3390/biology9030057)
 10. Mechchate H, de Castro Alves CE, Es-Safi I, Amaghnoije A, Jawhari FZ, Costa de Oliveira R, et al. Antileukemic, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Healing Activities Induced by a Polyphenol-Enriched Fraction Extracted from Leaves of *Myrtus communis* L. *Nutrients*. 2022;14(23):5055. doi: [10.3390/nu14235055](https://doi.org/10.3390/nu14235055)
 11. Hennia A, Miguel MG, Nemmiche S. Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Extracts: A Brief Review. *Medicines* (Basel, Switzerland). 2018;5(3):89. doi: [10.3390/medicines5030089](https://doi.org/10.3390/medicines5030089)
 12. Al-Edany T, Al-Saadi S. Taxonomic Significance of Anatomical Characters in Some Species of the Family Myrtaceae. *Am J Plant Sci*, 03(05), 572-81. doi: [10.4236/ajps.2012.35069](https://doi.org/10.4236/ajps.2012.35069)
 13. Chatri M, Mella CE, Des M. Characteristics of leaves anatomy of some *syzigium* (Myrtaceae). In: *Proceedings of the International Conference on Biology, Sciences and Education (ICoBioSE 2019)*. Paris, France: Atlantis Press; 2020. [10.2991/absr.k.200807.005](https://doi.org/10.2991/absr.k.200807.005)
 14. Kalachanis D, Psaras GK. Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. *Biol Plant*. 2005;49:105-110. doi: [10.1007/s00000-005-5110-2](https://doi.org/10.1007/s00000-005-5110-2)
 15. Ciccarelli D, Pagni AM, Anreucci AC. Ontogeny of secretory cavities in vegetative parts of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae): an example of schizoly-sigenous development. *Israel Journal of Plant Sciences*. 2003;51(3):193-8. doi: [10.1560/12F4-M3YH-WD2D-NF3B](https://doi.org/10.1560/12F4-M3YH-WD2D-NF3B)
 16. Dastagir G, Ahmad I, Uza NU. Micromorphological evaluation of *Daphne mucronata* Royle and *Myrtus communis* L. using scanning electron microscopic techniques. *Microsc Res Tech*. 2022;85(3):1120-34. doi: [10.1002/jemt.23981](https://doi.org/10.1002/jemt.23981)
 17. Ciccarelli D, Garbari F, Pagni AM. The flower of *Myrtus communis* (Myrtaceae): Secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2008;203(1):85-93. doi: [10.1016/j.flora.2007.01.002](https://doi.org/10.1016/j.flora.2007.01.002)
 18. da Silva CJ, Barbosa LC, Marques AE, Baracat-Pereira MC, Pinheiro AL, Meira RM. Anatomical characterisation of the foliar colleters in Myrtoideae (Myrtaceae). *Aust J Bot*. 2012;60(8):707-17. doi: [10.1071/BT12149](https://doi.org/10.1071/BT12149)
 19. Barreira PR, Spala N, Cardim D, Souza N, Sá-Haiad M, Machado B, et al. Development and evolution of the gynoeceium in Myrteae (Myrtaceae). *Aust J Bot*. 2014;62(4):335-46. doi: [10.1071/BT14058](https://doi.org/10.1071/BT14058)
 20. Borodina NV, Kovalov VM, Koshovyi OM, Hamulia OV. [Microscopic research of shoots of the *Salix cinerea* L. of Ukrainian flora]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2019;3(31):276-84. Ukrainian. doi: [10.14739/2409-2932.2019.3.184189](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.3.184189)
 21. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy* [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. 2nd ed. Vol. 3. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2014. Ukrainian.
 22. Eid L, Parent M. Preparation of Non-human Primate Brain Tissue for Pre-embedding Immunohistochemistry and Electron Microscopy. *J Vis Exp*. 2017;122:55397. doi: [10.3791/55397](https://doi.org/10.3791/55397)
 23. Shcherbatiuk MM, Brykov VO, Martyn GG. [The preparation of plant tissues for electron microscopy (theoretical and practical aspects)]. Kyiv: Talkom; 2015. Ukrainian.
 24. Kang BH, Anderson CT, Arimura SI, Bayer E, Bezanilla M, Botella MA, et al. A glossary of plant cell structures: Current insights and future questions. *Plant Cell*. 2022;34(1):10-52. doi: [10.1093/plcell/koab247](https://doi.org/10.1093/plcell/koab247)
 25. Al-Edany TY, Al-Saadi SAAM. Taxonomic significance of anatomical characters in some species of the family Myrtaceae. *Am J Plant Sci*. 2012;3(5):572-81. doi: [10.4236/ajps.2012.35069](https://doi.org/10.4236/ajps.2012.35069)
 26. Fortuna-Perez AP, Marinho CR, Vatanparast M, de Vargas W, Iganci JR, et al. Secretory structures of the Adesmia clade (Leguminosae): Implications for evolutionary adaptation in dry environments. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 2021;48:125588. doi: [10.1016/j.ppees.2020.125588](https://doi.org/10.1016/j.ppees.2020.125588)
 27. Gostin IN. Glandular and Non-Glandular Trichomes from *Phlomis herba-venti* subsp. *Pungens* Leaves: Light, Confocal, and Scanning Electron Microscopy and Histochemistry of the Secretory Products. *Plants*. 2023;12:2423. doi: [10.3390/plants12132423](https://doi.org/10.3390/plants12132423)
 28. Viana A, Freitas EM de, Silva SM. Morphology, anatomy and leaf ultrastructure of *Froelichia tomentosa* (Mart.) Moq. (Amaranthaceae) – a critically endangered species in Brazil. *Ciência e Natura*. 2021;43:e26. doi: [10.5902/2179460X40503](https://doi.org/10.5902/2179460X40503)
 29. Raghu K, Naidoo Y, Dewir YH. Secretory structures in the leaves of *Hibiscus sabdariffa* L. *South African Journal of Botany*. 2019;121:16-25 doi: [10.1016/j.sajb.2018.08.018](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.08.018)
 30. Mercadante-Simões MO, Paiva EA. Leaf colleters in *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae): ecological, morphological and structural aspects. *C R Biol*. 2013;336(8):400-6. doi: [10.1016/j.crv.2013.06.007](https://doi.org/10.1016/j.crv.2013.06.007)
 31. Rodrigues TM, Santos DC, Machado SR. The role of the parenchyma sheath and PCD during the development of oil cavities in *Pterodon pubescens* (Leguminosae-Papilionoideae). *C R Biol*. 2011;334(7):535-43. doi: [10.1016/j.crv.2011.04.005](https://doi.org/10.1016/j.crv.2011.04.005)

Ultrafine industrial aerosol as an occupational risk factor for sintering industry workers

L. P. Sharavara *^{1,A,B,C,D}, N. M. Dmytrukha ^{2,A,C,E,F}, I. M. Andrusyshyna ^{2,A,C,E,F}

¹Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine, ²State Institution "Kundiiev Institute of Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv

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

Keywords:

metallurgical production, sintering factory, ultrafine industrial aerosol, suspended particulate matter, occupational risk.

Ключові слова:

металургійне виробництво, агломераційне відділення, ультрадисперсний промисловий аерозоль, зважені частки, професійний ризик.

Надійшла до редакції / Received: 18.09.2024

Після доопрацювання / Revised: 30.09.2024

Схвалено до друку / Accepted: 10.10.2024

Conflicts of interest:

authors have no conflict of interest to declare.

Конфлікт інтересів:

відсутній.

*E-mail:

saravaralarisa@gmail.com

Aim. Assessment of the physicochemical characteristics of suspended particulate matter of the ultrafine range present in the air of the working area of the sintering factory of a metallurgical plant.

Materials and methods. The assessment and analysis of the physicochemical parameters of ultrafine particles were carried out in different areas of the sintering factory of the metallurgical plant. The parameters were measured using a portable scanning spectrometer Nanoscan 3910 (USA). The chemical composition of the suspended particulate matter was determined by the method of optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (OES-I-ZP) using the device "Ortima 2100 DV" (PerkinElmer, USA).

Results. It was estimated that the concentration of suspended particulate matter of ultrafine size in the main part of the sintering machine ranged from 3.02×10^4 to 3.12×10^4 per cm^3 , in the tail part of the sintering machine – from 5.09×10^4 to 7.59×10^4 per cm^3 , in the sintering machine control room No. 1 – from 2.06×10^4 to 2.38×10^4 per cm^3 , in the workers of the control group – from 1.43×10^4 to 1.73×10^4 per cm^3 . The quantitative concentration of suspended particulate matter by individual sizes at all workplaces of the sinter plant workers compared to workers of the control group had a significant difference. Values of the total surface area and surface volume of suspended particulate matter of the nano-sized range had their maximum in the tail part and near the head of the sintering machine, the lowest values were recorded around the control room and among the employees of the plant management department. The highest mass concentration of ultrafine particles was recorded in the tail part of the sintering machine ($22.55 \mu\text{g}/\text{m}^3$ to $508.35 \mu\text{g}/\text{m}^3$), which is associated with a significant amount of suspended particulate matter of a larger size ($\geq 115.5 \text{ nm}$). The chemical composition of the particles of the ultrafine range included aluminum, calcium, iron, magnesium, manganese, silicon, and phosphorus, which is explained by the specifics of the technological process, and the exceeding of the hygienic standard was observed for calcium, silicon and phosphorus.

Conclusions. It was established that during the sintering of the agglomerate in the agglomeration compartment, many suspended particles of the ultrafine range are formed. They included aluminum, iron, manganese, magnesium, silicon, phosphorus, and calcium. Significantly higher values of the number, mass concentration, surface area and surface volume of suspended particulate matter were determined at the workplaces of sintering factory workers, which had a statistically significant difference compared to the workers of the control group.

Modern medical technology. 2024;16(4):303-309

Ультрадисперсний промисловий аерозоль як фактор професійного ризику для працівників агломераційного виробництва

Л. П. Шаравара, Н. М. Дмитруха, І. М. Андрусишина

Мета роботи – оцінити фізико-хімічні характеристики зважених частинок ультрадисперсного діапазону, що містяться в повітрі робочої зони працівників агломераційного відділення металургійного заводу.

Матеріали і методи. Оцінювання й аналіз фізико-хімічних показників ультрадисперсних частинок здійснили на різних ділянках агломераційного відділення металургійного заводу. Показники встановили за допомогою портативного скануючого спектрометра Nanoscan 3910 (США). Хімічний склад зважених частинок визначено методом оптико-емісійної спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою (ОЕС-ІЗП) за допомогою приладу Optima 2100 DV (PerkinElmer, США).

Результати. Концентрація зважених частинок ультрадисперсного розміру в головній частині агломераційної машини коливалася в межах від $3,02 \times 10^4$ до $3,12 \times 10^4$ на см^3 , у хвостовій частині агломераційної машини – від $5,09 \times 10^4$ до $7,59 \times 10^4$ на см^3 , у пульті управління агломераційної машини № 1 – від $2,06 \times 10^4$ до $2,38 \times 10^4$ на см^3 , у працівників контрольної групи – від $1,43 \times 10^4$ до $1,73 \times 10^4$ на см^3 . Кількісна концентрація зважених частинок за окремими розмірами на всіх робочих місцях агломератника порівняно з працівниками контрольної групи достовірно відрізнялася. Показники загальної площі поверхні та об'єму

поверхні зважених частинок нанорозмірного діапазону були максимальними у хвостовій частині та біля головної частини агломераційної машини; найменші показники зареєстровано в зоні пульту управління та у працівників відділу заводоуправління. Найбільшу масову концентрацію ультрадисперсних частинок визначили у хвостовій частині агломераційної машини (22,55–508,35 мг/м³), що пов'язано зі значною кількістю зважених частинок більшого розміру ($\geq 115,5$ нм). До хімічного складу частинок ультрадисперсного діапазону входили алюміній, кальцій, залізо, магній, марганець, кремній і фосфор, що пояснюється специфікою технологічного процесу; перевищення гігієнічного нормативу встановлено для кальцію, кремнію та фосфору.

Висновки. У процесі спікання агломерату в агломераційному відділенні утворюється велика кількість зважених частинок ультрадисперсного діапазону. Вони містили алюміній, залізо, марганець, магній, кремній, фосфор і кальцій. На робочих місцях агломератників встановлено істотно вищі показники кількості, масової концентрації, площі та об'єму поверхні зважених частинок, що мали статистично вірогідні відмінності порівняно з параметрами, які визначені в працівників контрольної групи.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 303-309

The metallurgical industry in Ukraine is one of the most harmful and dangerous industries in terms of working conditions due to insufficiently advanced technology and outdated equipment. Therefore, the working conditions of workers in sintering, cast iron, steel and rolled products workshops are particularly difficult and harmful [1].

Employees of this category work in harmful working conditions, they are affected by unfavorable microclimatic conditions, increased concentration of industrial dust and chemicals, industrial noise and vibration [2,3,4]. The complete exclusion of dangerous and harmful professional factors in metallurgical production is impossible, but developing and applying preventive measures to reduce their negative impact on workers' health is an urgent task for occupational hygiene. One of the main issues is a detailed analysis of dangerous and harmful production factors, especially industrial aerosol [5].

Among professional pathologies, dust lung pathology (pneumoconiosis, chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary diseases) is the most widespread in Ukraine. Today it also occupies a leading place among the causes of temporary incapacity, disability and mortality [2,6].

It is known that the main reason for the development of respiratory diseases is the increased level of industrial dust in the working zone air (WZA) of workers. In Ukraine, only the total dust mass is determined and regulated, not considering its finely dispersed and ultrafine components. It is known that suspended particulate matter (SPM) of the finely dispersed and ultrafine range affects health most negatively, causing pathological changes in various organs and systems of the human body [7,8,9,10,11,12].

Therefore, studying the SPM content of the ultrafine range in the WZA of employees of various enterprises, including metallurgical ones, is an urgent hygienic issue to determine, apply and implement effective measures to prevent occupational and industrial pathology.

Aim

The study aims to assess the physicochemical parameters of ultrafine particles present in the air of the working area of the sintering factory of a metallurgical plant.

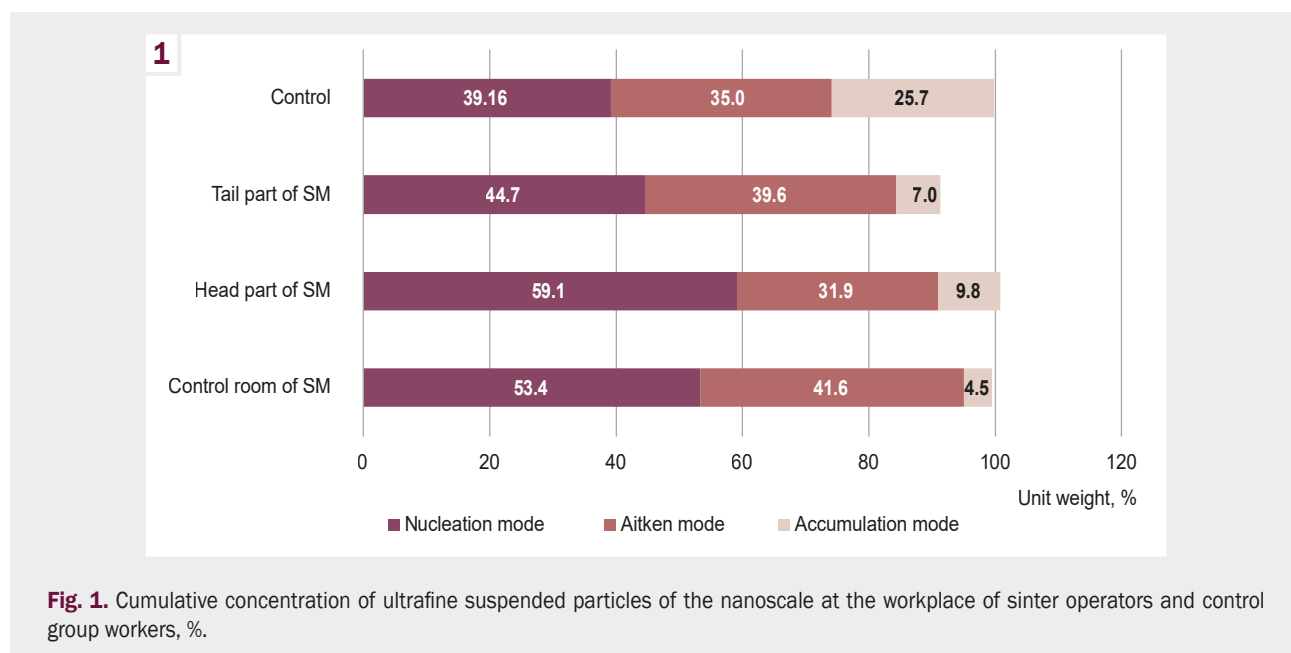
Materials and methods

The physical characteristics of ultrafine industrial aerosol (UIA) (number per cm³, surface area and volume, mass concentration) were studied using a Nanoscan 3910 portable scanning spectrometer (USA), which allows the determination of suspended particles in the range from 10 to 400 nm. The device allows to measure the SPM in 13 channels for individual particle sizes: 11.5 nm, 15.4 nm, 20.5 nm, 27.4 nm, 36.5 nm, 48.7 nm, 64.9 nm, 86.6 nm, 115.5 nm, 154 nm, 205.4 nm, 273.8 nm and 365.2 nm. The study of the content of ultrafine particles in the WZA was carried out at the sinter factory workplace (WP) in different areas of the sintering department: the head part of the sintering machine (SM) (n = 39), the control room of SM No. 1 (n = 130), the tail part of the SM (n = 52), where workers spend a long time during their work shift, managing the sintering process, controlling the operation of equipment and machines.

The results obtained were compared with the results obtained at the WP in the area of the SM control room (isolated WP from the shop floor), as well as with the results at the WP of employees of the plant management department (n = 130) who are not exposed to industrial aerosol and have acceptable working conditions, so they were taken as a control group.

Statistically, the study results were processed using the Statistica, version 13 licensed software package (Copyright 1984–2018 TIBCO Software Inc. All rights reserved. License No. JPZ8041382130ARCN10-J). The normality of the distribution of quantitative features was determined with the Shapiro–Wilk test. Since all the values were distributed abnormally, the descriptive statistics were presented as the median with interquartile range – Me (Q₂₅; Q₇₅). The Mann–Whitney test assessed the reliability of differences in the compared values. Differences were considered probable at the level of statistical significance $p \leq 0.05$.

The chemical composition of the SPM isolated from the WZA was determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) using “Optima 2100 DV” instrument (PerkinElmer, USA) [NIOSH, 2001, GOSTISO 15202-2008]. The obtained results were processed using the software of the OES-IMP device WinLab32 in the Windows XP prof operating system. The results were compared with the maximum permissible concentrations (MPC) for the WZA according to Order



No. 1596 “Hygienic regulations of chemicals in the working zone area” dated July 14, 2020.

Results

The metallurgical plant includes a sinter factory, which consists of the following divisions: car tipping division, receiving bins, raw material distribution division, raw material warehouses, charge bins, fuel and flux grinding and crushing divisions, sintering division, gas-treating facilities, sinter sorting and cooling divisions, and a “return” sorting division. The sinter factory is a complex set of structures, mechanisms and machines for producing iron ore sinter, which is subsequently used in blast furnace ironmaking to produce cast iron. The main equipment of the sintering division includes a sintering machine (SM), which agglomerates the sinter from iron ore and metallurgical waste using limestone and fine coke as fuel. The sintering process begins at the sintering head of the SM, where the raw material is loaded onto the sinter strand and passed under the SM ignition furnace, where natural gas with a combustion temperature of about 2200–3000 °C is burned, resulting in the agglomerating of the sinter. The finished sinter slowly moves on the sinter stand pallets, cooling down. At the tail end of the SM, the pallets enter the sinter strand rounding and are then fed to screens to screen out small pieces and return them to the previous stages. The finished sinter is cooled by atmospheric air and screened on vibrating screens in the sorting division for further transportation to the next technological processes.

The sintering department employs sinter operators who control the sintering process and monitor the operation of equipment and machinery. While performing technological operations, they are exposed to high concentrations of industrial dust and chemicals [13]. As a result of the study of the WZA on the sinter factory WP for the content of ultrafine SPM, it was found that ultrafine particles of the nanoscale range were present in all areas of the sintering department. It was found that the quantitative concentra-

tion of ultrafine SPM on the sinter factory WP in the head part of the SM ranged from 3.02×10^4 to 3.12×10^4 per cm^3 , and in the tail part of the SM from 5.09×10^4 to 7.59×10^4 per cm^3 . In the SM control room No. 1, where the sinter operator’s WP is isolated from the main factory, the quantitative concentration of SPM was lower than in the previous WPs and ranged from 2.06×10^4 to 2.38×10^4 per cm^3 . The lowest quantitative concentration of SMP was recorded at the WP of workers in the control group – from 1.43×10^4 to 1.73×10^4 per cm^3 .

When studying the concentration of ultrafine SPM by individual sizes, it was found that their amount on the sintering machine in the head part compared to the WP in the control room during agglomerating of the sinter was significantly higher for the following sizes: 11.5 nm, 15.4 nm, 20.5 nm, 27.4 nm, 36.5 nm, 48.7 nm, 115.5 nm, 154 nm, 205.4 nm, 365.2 nm ($p \leq 0.014$) and 273.8 nm ($p \leq 0.001$). At the WP in the tail part of the SM, the amount of SMP of 11.5 nm ($p \leq 0.008$), 15.4 nm, 36.5 nm, 48.7 nm, 64.9 nm and 86.6 nm ($p \leq 0.005$) was significantly higher compared to the WP in the control room. No significant difference was observed in the number of particles of larger sizes (from 86.6 nm to 365.2 nm) on these WPs.

The quantitative concentration of ultrafine SPM by individual sizes on all sinter factory WPs compared to control group workers had a significant difference (Table 1). In the control group workers, the amount of larger-sized SPM (≥ 154 nm) was statistically significantly higher compared to the WPs in the head part of the SM and the control room. The data obtained allow us to conclude that pyrometallurgical technological processes, such as agglomerating of sinter, are a source of ultrafine SPM entering the air of the working area in a significant concentration.

When calculating the cumulative concentration of ultrafine nanoscale SPM (≤ 100 nm), it was found that the largest percentage of it was part of the industrial aerosol on the sinter factory WP in the head part of the SM, and in the SM control room – 91 % and 95 %, respectively (Fig. 1). The highest percentage of larger particulate matter (accumulation mode) was recorded at the work-

Table 1. Analysis of the content of ultrafine suspended particles in the air of the working zone air of sintering division workers (number, amount/cm³), Me (Q₂₅; Q₇₅)

Size	Head part of SM, n = 39	Tail part of SM, n = 39	SM control room, n = 130	Control group, n = 130
11.5	1130.27 (966.15; 1336.49)* [§]	1733.98 (1204.963; 2053.43)* [§]	709.58 (650.58; 763.57) [§]	359.69 (328.64; 460.28)
15.4	1743.64 (1276.66; 1988.06)* [§]	1894.36 (1711.61; 2247.50)* [§]	930.04 (867.49; 973.44)	826.71 (773.45; 911.43)
20.5	1936.72 (1445.63; 2028.59)* [§]	1409.31 (896.88; 2411.39)	801.98 (777.45; 837.13) [§]	991.59 (970.54; 1071.37)
27.4	3864.64 (3309.15; 4099.98)* [§]	4606.96 (3493.75; 5280.79)* [§]	1884.11 (1874.13; 1951.86) [§]	1385.24 (1332.24; 1441.37)
36.5	4996.45 (4586.25; 5133.24)* [§]	8694.64 (7540.79; 8989.50)* [§]	3149.58 (3064.53; 3260.27) [§]	1234.26 (1167.83; 1319.88)
48.7	4935.93 (4797.18; 4971.93)* [§]	11345.50 (9204.65; 11750.50)* [§]	3879.41 (3797.62; 4142.79) [§]	1126.94 (967.87; 1175.57)
64.9	4193.93 (4114.54; 4212.06) [§]	9797.28 (8322.21; 11559.50)* [§]	3813.07 (3756.85; 4147.71) [§]	1302.93 (1232.74; 1434.91)
86.6	3404.47 (3217.91; 3475.45) [§]	8352.93 (3969.55; 10785.50)	3051.63 (3009.14; 3345.51) [§]	1860.75 (1795.31; 2023.13)
115.5	2471.49 (2214.05; 2596.26)*	4695.19 (1265.40; 8320.89)	1902.26 (1821.69; 1954.23) [§]	2160,79 (2080,66; 2229,92)
154	1591.78 (1254.43; 1602.72)* [§]	3918.62 (1592.57; 5337.01)	753.54 (720.89; 773.99) [§]	1841.39 (1788.77; 1904.39)
205.4	795.19 (605.99; 958.19)* [§]	0.00 (0.00; 5977.00)	75.12 (32.42; 136.75) [§]	1203.25 (1166.88; 1231.23)
273.8	344.67 (338.86; 615.48)*	0.00 (0.00; 6736.00)	0.00	597.66 (559.73; 643.72)
365.2	416.13 (320.19; 535.51) [§]	277.27 (0.00; 4392.35)	129.28 (115.18; 159.05) [§]	275.30 (243.14; 312.76)

*: statistically significant difference with the sinter operator's workplace in the SM control room (≤0.05); [§]: statistically significant difference with the control group (≤0.05).

Table 2. Chemical composition of ultrafine suspended particulate matter (number/cm³) in the working zone air in different areas of the sintering division

Chemical element	Head part of SM		Tail part of SM		SM control room		MPC*
	min/max	median value	min/max	median value	min/max	median value	
Al	0.001/0.006	0.004	0.0003/0.0050	0.004	0.003/0.005	0.004	6.00
Ca	3.42/3.62	3.490	2.41/2.64	2.520	1.45/2.55	1.990	1.00
Fe	0.002/0.004	0.003	0.0003/0.0030	0.002	0.0003/0.0050	0.005	6.00
Mg	0.41/0.60	0.500	0.21/0.22	0.220	0.26/0.48	0.370	4.00
Mn	0.001/0.002	0.001	0.006/0.009	0.008	0.003/0.008	0.005	0.05
Si	1.32/2.23	1.770	1.54/1.66	1.600	1.52/3.41	2.460	1.00
P	0.39/0.64	0.500	–	–	–	–	0.20

*: MPC is according to the Order No. 1596 "Hygienic regulations of chemicals in the working zone area" dated July 14, 2020.

place of workers in the control group (25.7 %) and accounted for almost a third of the studied air in the working area.

In the head part of the SM, the highest quantitative concentration of nanoparticles was observed in the size range from 27.4 nm to 115.5 nm (Fig. 2), which accounted for 67.9 % of the total number of detected SPM in the working zone air. In the tail part of the SM and the control room, the largest number was recorded among particles with a size of 36.5 nm to 86.6 nm and accounted for 60.6 % and 65.8 % of the total amount of detected SPM in the UIA, respectively. In the control group employees, the largest number of particles was in the size range from 86.6 nm to 154.0 nm, accounting for 38.5 % of the total number of detected SPM.

The total surface area of nano range ultrafine SPM at a sinter operator's WP near the head part of SM ranged from 7.22 × 10⁸ to 9.20 × 10⁸ nm²/cm²; near the tail part of the SM, it ranged

from 7.41 × 10⁸ to 1.19 × 10⁹ nm²/cm², at the control group's WP – from 6.74 × 10⁸ to 7.93 × 10⁸ nm²/cm², but at the WP in the control room it was the smallest – from 3.61 × 10⁸ to 4.13 × 10⁸ nm²/cm². The surface area of this SPM by individual dimensions is demonstrated in Fig. 3. It was determined that the surface area was larger for the SP with the highest quantitative concentration.

The surface volume of ultrafine nanoscale SPM had different values in different parts of the SM with maximum values at the WP in the tail part of the SM – from 1.88 × 10¹⁰ to 4.24 × 10¹¹ nm³/cm³ and at the WP near the head part of the SM – from 2.29 × 10¹⁰ to 3.19 × 10¹¹ nm³/cm³, the lowest values were recorded in the control room – from 8.03 × 10⁹ to 1.10 × 10¹⁰ nm³/cm³ and in the control group – from 2.19 × 10¹⁰ to 2.83 × 10¹⁰ nm³/cm³.

The mass concentration of ultrafine SPM at a sinter operator's WP near the head of the SM ranged from 27.49 µg/m³

2

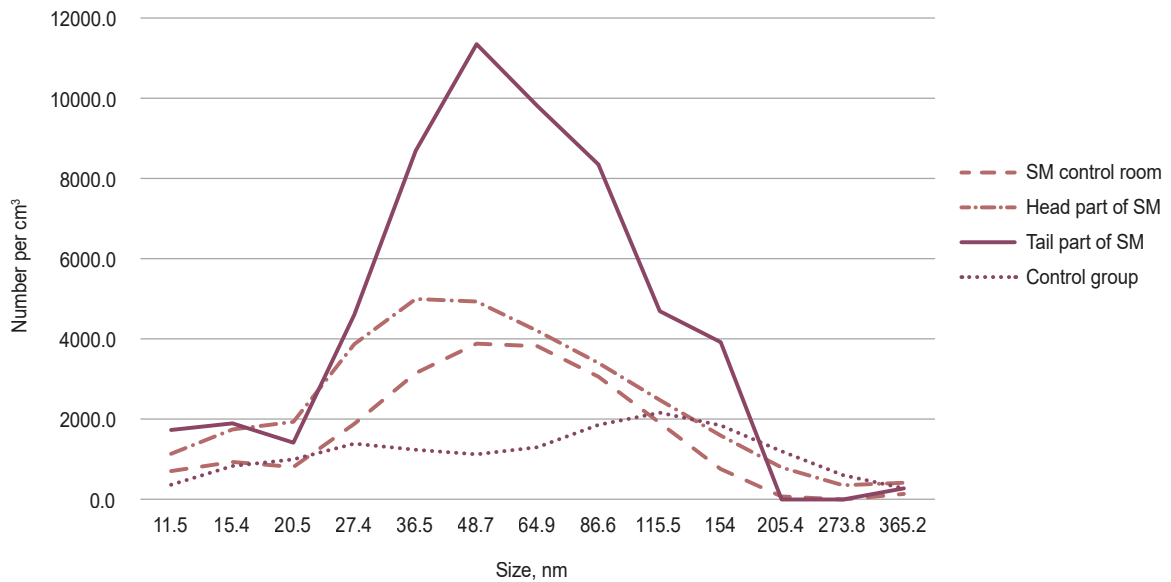


Fig. 2. Quantitative concentration of ultrafine suspended particles (number/cm³) in the air of a sinter operator's working zone in different areas of the sintering division, and control group employees.

3

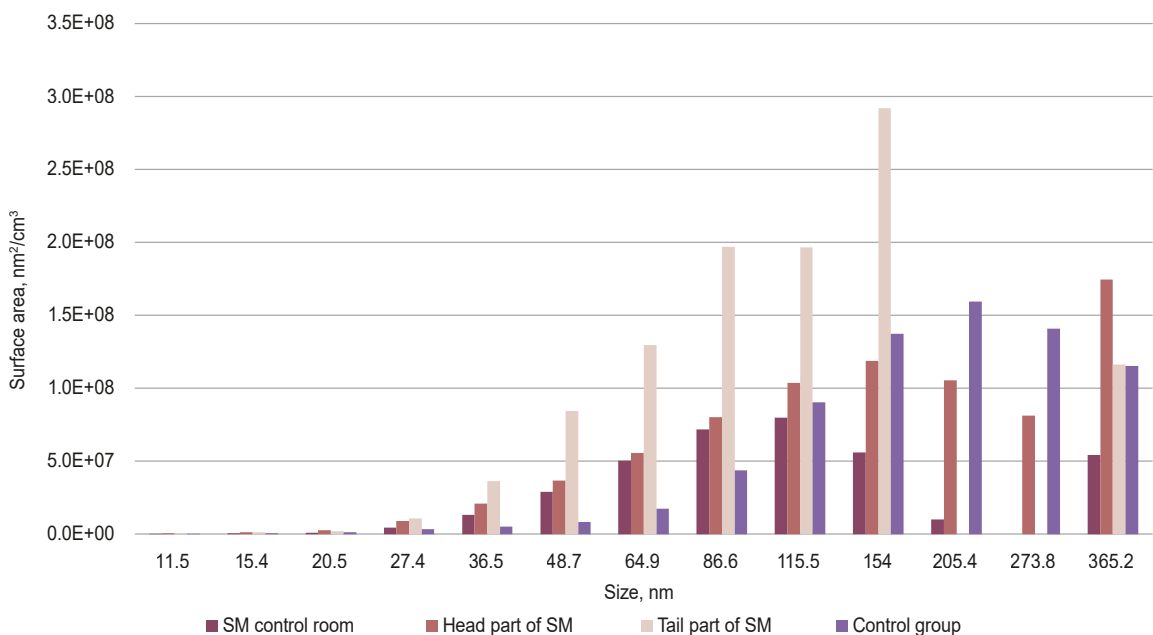


Fig. 3. The surface area of ultrafine suspended particles of different sizes (nm²/cm³) in the working zone air in different areas of the sintering division, and for control group employees.

to 38.24 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, in the tail of the SM – from 22.55 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ to 508.35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, in the control room the concentration was the lowest – from 9.63 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ to 13.20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, and the maximum mass concentration in the control group was 33.91 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. The high mass concentration of ultrafine SPM in the tail part of SM is associated with the highest number of larger SP (115.5 nm and 154.0 nm). High indicators of mass concentration, area and surface volume in workers of the control group were noted due to a greater number of large SP in the UIA composition (≥ 115.5 nm).

The study of the chemical composition of ultrafine particulate matter at a sinter operator's WP is presented in *Table 2*, showing that the air contains particles containing aluminum, calcium, iron, magnesium, manganese, silicon, and phosphorus. According to Order No. 1596 "Hygienic regulations of chemicals in the working zone area" dated July 14, 2020, the MPC in the WZA was exceeded by 2.0–5.5 times for calcium, 1.6–2.5 times for silicon, and 2.5 times for phosphorus, while other chemical elements did not exceed the MPC and met the hygienic requirements.

Discussion

Our study of the samples of WZA for the presence of ultrafine SPM at sinter operators' WP during agglomerating of sinter confirmed their presence in various quantitative concentrations at all stages of the technological process, which coincides with the studies of Gabriele Marcias et al. [14], who determined the content of SPM in WZA at a steel plant and M. Järvelä et al. [15] at a ferroalloy plant. As in our study, the authors quantified ultrafine particulate matter in the metallurgical industry workers' WZA to determine the number of particles and their size distribution. Their investigations confirmed the presence of many ultrafine particles in the WZA directly next to the metal melting point and a gradual decrease in their concentration at the WPs located at a distance from the melting process. Our studies also found that the largest amount of ultrafine SPM is formed at WPs near the melting point (the head and tail parts of SM), while workers not involved in the melting process are exposed to the lowest quantitative concentration. The authors state that studying the amount of ultrafine SPM, its size distribution, and the determination of its chemical composition is an important step in determining occupational risks levels for workers in these conditions.

Contrary to other studies, we measured and analyzed not only the quantitative concentration of SPM but also its other physical characteristics: total surface area and volume, mass concentration for SPM in general and separately for different sizes. According to the scientists, the value of the total surface area of suspended particles, which we measured in different areas of the sintering division, is important. The largest surface area was characteristic of the SPM, whose quantitative concentration was the highest. This value is undoubtedly important since with an increase in surface area, the possibility of adsorption on the SP and the transport of additional pollutants from the environment to the worker's body rises, which increases their toxicological properties to biological structures of the body [16].

In our work, we also determined the chemical composition of suspended particles. We found that WZA of the sintering division contained suspended particles comprising aluminum, iron, manganese, magnesium, calcium, silicon, and phosphorus, which corresponds to the technological process of agglomerating sinter with the addition of various impurities. Our data on the chemical composition of suspended particles is confirmed by several foreign studies that have established the presence of these elements in the air from emissions of various industrial enterprises, including the metallurgical industry. The presence of these metals in the nanoscale range is due to the peculiarities of the technological process when during pyrometallurgical technological operations of melting or sintering, SPs of various sizes are formed and enter the workers' WZA [14,17].

It is worth mentioning that our studies confirm the effectiveness of collective means of protection of workers (isolated sinter operator's WP in the control room) against the effects of ultrafine range SPM. It has been determined that the SPM quantitative concentration and surface area in the control room were significantly lower by 1.3–2.5 times compared to the WP near the sinter melting site. These data can be used in the risk management system from exposure to ultrafine SPM.

Thus, the study of WZA for the content of the ultrafine range SPs and their physicochemical characteristics is necessary for the hygienic assessment of production factors and determination of occupational risk levels at different WPs at metallurgical plants and other industries to develop and implement effective measures for the prevention of occupational and industrial pathology.

Conclusions

1. It has been established that in the process of agglomerating the sinter in the sintering division, a large amount of ultrafine nanorange SPM is formed. The concentration of SP in the sintering division during agglomerating of the sinter had a statistically significantly higher amount of ultrafine SPM ($p \leq 0.05$) compared to WPs of the control group employees who were not involved in melting processes.

2. The chemical composition of ultrafine industrial aerosol includes iron, manganese, magnesium, silicon, phosphorus, and calcium, which is explained by the use of these substances during the agglomeration of the sinter. Exceeded values of the MPC according to Order No. 1596 "Hygienic regulations of chemicals in the working zone area" dated July 14, 2020, were determined for calcium, silicon and phosphorus. Other chemicals did not exceed the MPC, but it should be noted that due to their ultra-small size, they can have an increased toxic effect on the biological structures of the body.

3. The studies conducted at a sinter operator's WP in the control room confirm the effectiveness of collective protective measures in the system of occupational risk management against the effects of ultrafine SPM (reduction in quantitative concentration by 1.3–2.5 times).

Prospects for further research. In the future, it is planned to study the health status of workers in the studied occupational group by calculating the level of occupational risk for the purpose of early and effective prevention of occupational and occupation-related pathology. In the future, it is planned to study the health status of workers of the studied occupational group by calculating the level of occupational risk for the purpose of early and effective prevention of occupational and occupationally induced pathology

Information about the authors:

Sharavara L. P., MD, PhD, Associate Professor of the Department of General Hygiene, Medical Ecology and Preventive Medicine, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-9102-3686](https://orcid.org/0000-0001-9102-3686)

Dmytrukha N. M., PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Industrial Toxicology and Occupational Health in the Use of Chemical Substances, State Institution "Kundiiev Institute of Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0001-9161-3889](https://orcid.org/0000-0001-9161-3889)

Andrusyshyna I. M., PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Sector for the Study of Microelements, State Institution "Kundiiev Institute of Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv.

ORCID ID: [0000-0001-5827-3384](https://orcid.org/0000-0001-5827-3384)

Відомості про авторів:

Шаравара Л. П., канд. мед. наук, доцент каф. загальної гігієни, медичної екології та профілактичної медицини, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Дмитруха Н. М., д-р біол. наук, старший науковий співробітник, т. в. о. зав. лабораторії промислової токсикології і гігієни праці при використанні хімічних речовин імені академіка НАМН України Трахтенберга Ісаака Михайловича, ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва Національної академії медичних наук України», м. Київ.
 Андрусишина І. М., д-р біол. наук, старший науковий співробітник, зав. сектора з вивчення мікроелементозів, ДУ «Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва Національної академії медичних наук України», м. Київ.

production. *J Occup Environ Hyg.* 2016;13(7):558-68. doi: [10.1080/15459624.2016.1159687](https://doi.org/10.1080/15459624.2016.1159687)

References

- Belokon KV, Troicka OO, Ryzhkov VG. [Analysis of harmful and dangerous productive factors of electrometallurgy production]. Collection of scholarly papers of Dniprovsk State Technical University (Technical Sciences). 2019;1(34):150-6. Ukrainian. doi: [10.31319/2519-2884.34.2019.29](https://doi.org/10.31319/2519-2884.34.2019.29)
- Pavlenko OI. [Determination of the permissible period of work in the conditions of modern metallurgical production]. Collection of scientific works of staff member of P. L. Shupyk NMAPE. 2018;29:380-92. Ukrainian. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Znpsnmapo_2018_29_37
- Sharavara LP, Dmytrukha NM. [Working conditions as a risk factor for the health of employees of a metallurgical enterprise]. Bulletin of problems in biology and medicine. 2024;1:126-38. Ukrainian. doi: [10.29254/2077-4214-2024-1-172-126-137](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2024-1-172-126-137)
- Oryekhova OV. Suchasnyi stan umov pratsi v metalurhinomu vyrobnytstvi Ukrainy [The current state of working conditions in metallurgical production of Ukraine]. ScienceRise. Medical science. 2016;(10):34-9. Ukrainian. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/textsrm_2016_10_8
- Nahoma AM. Medico-social and demographic characteristics of the formation of occupational morbidity in Ukraine in the pre-war period and during martial law. *Ukrainskyi zhurnal z problem medytsyny pratsi.* 2022;18(3):171-80. doi: [10.33573/ujoh2022.03.171](https://doi.org/10.33573/ujoh2022.03.171)
- Prodanchuk MH, Basanets AV, Kravchuk OP, Hashynova KY, Hvozdet'skyi VA. [Analysis of the dynamics of occupational morbidity and its consequences in Ukraine in comparison with other countries of the world]. *Medichni perspektivi.* 2023;28(3):137-52. Ukrainian. doi: [10.26641/2307-0404.2023.3.289217](https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.3.289217)
- Trachtenberg IM, Dmytrukha NM, Kozlov KP. [Cardio-vasotoxic effect of heavy metal compounds and their nanoparticles (review)]. *Ukrainskyi zhurnal z problem medytsyny pratsi.* 2022;18(3):237-52. Ukrainian. doi: [10.33573/ujoh2022.03.237](https://doi.org/10.33573/ujoh2022.03.237)
- Calderón-Garcidueñas L, Ayala A. Air Pollution, Ultrafine Particles, and Your Brain: Are Combustion Nanoparticle Emissions and Engineered Nanoparticles Causing Preventable Fatal Neurodegenerative Diseases and Common Neuropsychiatric Outcomes? *Environ Sci Technol.* 2022;56(11):6847-56. doi: [10.1021/acs.est.1c04706](https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04706)
- Liu NM, Miyashita L, Maher BA, McPhail G, Jones CJ, Barratt B, et al. Evidence for the presence of air pollution nanoparticles in placental tissue cells. *Sci Total Environ.* 2021;751:142235. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.142235](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142235)
- Calderón-Garcidueñas L, Torres-Jardón R, Franco-Lira M, Kulesza R, González-Maciel A, Reynoso-Robles R, et al. Environmental Nanoparticles, SARS-CoV-2 Brain Involvement, and Potential Acceleration of Alzheimer's and Parkinson's Diseases in Young Urbanites Exposed to Air Pollution. *J Alzheimers Dis.* 2020;78(2):479-503. doi: [10.3233/JAD-200891](https://doi.org/10.3233/JAD-200891)
- Pryor JT, Cowley LO, Simonds SE. The Physiological Effects of Air Pollution: Particulate Matter, Physiology and Disease. *Front Public Health.* 2022;10:882569. doi: [10.3389/fpubh.2022.882569](https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.882569)
- Yavorovskiy OP, Savosko SI, Riabovol VM, Zinchenko TO. [Toxicological and morphological aspects of nano-TiO₂ and nano-TiO₂-Ag acute action on the liver of mice]. *Pathologia.* 2023;20(2):162-9. Ukrainian. doi: [10.14739/2310-1237.2023.2.277852](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2023.2.277852)
- Sharavara LP, Dmytrukha NM, Andrusyshyna IM. [Professional risk factors in the working process of employees of the metallurgical enterprise]. *Ukrainskyi zhurnal z problem medytsyny pratsi.* 2023;19(4):277-84. Ukrainian. doi: [10.33573/ujoh2023.04.277](https://doi.org/10.33573/ujoh2023.04.277)
- Marcias G, Fostinelli J, Catalani S, Uras M, Sanna AM, Avataneo G, et al. Composition of Metallic Elements and Size Distribution of Fine and Ultrafine Particles in a Steelmaking Factory. *Int J Environ Res Public Health.* 2018;15(6):1192. doi: [10.3390/ijerph15061192](https://doi.org/10.3390/ijerph15061192)
- Järvelä M, Huvinen M, Viitanen AK, Kanerva T, Vanhala E, Uitti J, et al. Characterization of particle exposure in ferrochromium and stainless steel

Inhibitory potential of probiotic spore formers grown as mono- and mix-cultures under conditions of different nutrient availability

O. V. Knysh^{ID}*A-F, A. V. Martynov^{ID}A-C,E,F, T. P. Osolodchenko^{ID}B,C

State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv

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

Keywords:

A. clausii, *H. coagulans*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, inhibitory activity, dissemination ability, co-cultivation, nutrient depletion, starvation.

Ключові слова:

A. clausii, *H. coagulans*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, інгібіторна активність, здатність до дисемінації, спільне культивування, виснаження поживних речовин, голодування.

Надійшла до редакції /
Received: 23.09.2024

Після доопрацювання /
Revised: 11.11.2024

Схвалено до друку /
Accepted: 20.11.2024

Конфлікт інтересів:
відсутній.

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

*E-mail:
knysh_oksana@ukr.net

In many clinical cases, the use of probiotic microorganisms is a safer alternative to antibiotic therapy. Spore-forming probiotics, due to their high resistance to damaging environmental factors, stand out among other beneficial microorganisms and, therefore, deserve special attention. Determining the conditions that enhance the inhibitory potential of probiotic bacilli is an important step towards increasing their effectiveness against pathogenic bacteria and pathobionts.

The aim of this study was to determine whether the inhibitory potential of spore-forming probiotic species: *Alkalihalobacillus clausii* (previously known as *B. clausii*), *Heyndrickxia coagulans* (formerly *B. coagulans*) and *B. subtilis* increases under conditions of co-cultivation or nutrient depletion (starvation).

Materials and methods. The commercial strains of bacilli from three probiotic preparations: Enterogermina (*A. clausii*), Lactovit forte (*H. coagulans*) and Subalin (*B. subtilis*) were used in this study. The ability of mono- and mix-cultures of the studied probiotic species cultured on conventional and semi-starvation nutrient media to affect the growth of indicator bacteria-pathobionts (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) was investigated by the agar block method (using 1.5 % nutrient agar) and the spot-on-lawn assay with wells (using 0.7 % nutrient agar).

Results. Inhibitory activity against indicator bacteria-pathobionts was characteristic of both mono- and mixed probiotic test cultures. Using the agar block method, probiotic monocultures grown on nutritive agar demonstrated moderate inhibitory activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*, but weak inhibitory activity against *E. coli*. Probiotic monocultures grown on "semi-starvation" agar and mix-cultures regardless of the culture medium showed pronounced inhibitory activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*, but moderate inhibitory activity against *E. coli*. Co-cultivation and cultivation on semi-starved media were accompanied by an increase in the number of isolated colonies of probiotic bacilli (disseminates) in the transparent zone of no growth and the pathobiont growth zone. Using spot-on-lawn assay revealed moderate inhibition of staphylococcus growth by both mono- and mixed probiotic cultures, regardless of their cultivation conditions. However, the inhibition indicators of probiotic mix-cultures were statistically significantly higher than those of monocultures. The inhibitory activity of probiotic monocultures against *E. coli* and *P. aeruginosa* was moderate, while probiotic mix-cultures had a pronounced inhibitory effect on these gram-negative bacteria.

Conclusions. The inhibitory activity and dissemination ability of spore-forming probiotic species: *A. clausii*, *H. coagulans* and *B. subtilis* increases under conditions of co-cultivation or nutrient depletion (starvation). The demonstrated effect of increasing the inhibitory potential of probiotic spore-forming bacteria by co-cultivation and application of nutrient depletion conditions requires further study and clarification of the underlying molecular mechanisms.

Modern medical technology. 2024;16(4):310-317

Інгібіторний потенціал спороутворювальних пробіотичних бактерій, вирощених як моно- та мікс-культури за умов різної доступності поживних речовин

О. В. Книш, А. В. Мартинов, Т. П. Осолодченко

У багатьох клінічних випадках застосування пробіотичних мікроорганізмів є безпечнішою альтернативою антибіотикотерапії. Спороутворювальні пробіотики завдяки своїй високій стійкості до шкідливих факторів довкілля вирізняються серед інших корисних мікроорганізмів, тому заслуговують на особливу увагу. Визначення умов, які посилюють інгібіторний потенціал пробіотичних бацил, є важливим кроком до підвищення їхньої ефективності проти патогенних бактерій і патобіонтів.

Мета роботи – визначити, чи збільшується інгібіторний потенціал спороутворювальних видів пробіотиків: *Alkalihalobacillus clausii* (раніше відомий як *B. clausii*), *Heyndrickxia coagulans* (раніше *B. coagulans*) і *B. subtilis* – за умов спільного культивування або виснаження поживних речовин (голодування).

Матеріали і методи. Під час дослідження використали комерційні штами бактерій із трьох пробіотичних препаратів: «Ентерожерміна» (*A. clausii*), «Лактовіт форте» (*H. coagulans*) і «Субалін» (*B. subtilis*). Досліджено

здатність моно- та мікс-культур досліджених видів пробіотиків, культивованих на звичайних і напівголодних поживних середовищах, впливати на ріст індикаторних бактерій-патобіонтів (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* і *Pseudomonas aeruginosa*) методом агарових блоків (з використанням 1,5 % поживного агару) та методом лунок на газоні (з використанням 0,7 % поживного агару).

Результати. Інгібіторна активність щодо індикаторних бактерій-патобіонтів властива і моно-, і змішаним пробіотичним тест-культурам. При використанні методу агарових блоків пробіотичні монокультури, вирощені на поживному агарі, характеризувалися помірно інгібіторною активністю проти *S. aureus* і *P. aeruginosa*, але слабкою щодо *E. coli*. Пробиотичні монокультури, вирощені на напівголодному агарі, та змішані культури незалежно від культурального середовища показали виражену інгібіторну активність щодо *S. aureus* і *P. aeruginosa*, але помірну щодо *E. coli*. Спільне культивування та культивування на напівголодних середовищах супроводжувалося збільшенням кількості ізольованих колоній (дисемінатів) пробіотичних бацил у прозорій зоні відсутності росту та зоні росту патобіонту. За допомогою методу лунок на газоні виявлено помірне пригнічення росту стафілококів і моно-, і змішаними пробіотичними культурами незалежно від умов культивування. Проте показники інгібування пробіотичних мікс-культур статистично достовірно вищі, ніж у монокультур. Інгібіторна активність пробіотичних монокультур проти *E. coli* та *P. aeruginosa* помірна, а пробіотичні мікс-культури мали виражену інгібіторну дію на ці грамнегативні бактерії.

Висновки. Інгібіторна активність і здатність до поширення спороутворювальних пробіотичних видів: *A. clausii*, *H. coagulans* і *B. subtilis* – зростає за умов спільного культивування або виснаження поживних речовин (голодування). Виявлений ефект збільшення інгібіторного потенціалу пробіотичних спороутворювальних бактерій шляхом спільного культивування та застосування умов виснаження поживних речовин потребує продовження вивчення та уточнення молекулярних механізмів, які лежать в його основі.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 310-317

Antibiotics are undoubtedly the most effective means of fighting infectious diseases. However, given their ability to cause serious adverse effects, in some clinical cases it is advisable to use safer alternative medicines. Probiotics are one of them [1,2,3]. In addition to their antimicrobial activity, probiotics have numerous human health benefits [4]. Popular probiotic microorganisms used as natural therapeutic agents are various species of the genera *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* and *Saccharomyces* [5,6].

Spore-forming probiotic bacteria have a significant advantage over many beneficial microorganisms due to their ability to survive in such extreme environmental conditions which are lethal to vegetative cells [4,7,8,9,10]. Currently, more than 40 species of probiotic bacilli are used to treat intestinal and other diseases [11]. *Alkalihalobacillus clausii* (previously known as *Bacillus clausii*), *Heyndrickxia coagulans* (formerly *Bacillus coagulans*) and *Bacillus subtilis* are among the most comprehensively studied species and are included in most commercial spore-based probiotics [8,12]. Four strains of *B. clausii* (O/C, N/R, SIN and T), derived from a single penicillin-resistant strain *B. subtilis* ATCC 9799, are recognized as safe by the European Food Safety Authority and have been added to the Qualified Presumption of Safety (QPS) list [10,13]. The US Food and Drug Administration (FDA) has granted Generally Recognized as Safe (GRAS) status to a number of probiotic strains of *B. subtilis* and *B. coagulans*, in particular, *B. coagulans* GBI-30 6086 (GRAS Notice No. GRN 660) [14,15]. The safety of recombinant *B. subtilis* strain (UCM B-5020) has been proved *in vitro*, on animals and on healthy volunteers, and the probiotic preparation Subalin based on this strain has been approved as a medical immunobiological drug by the national authority of Ukraine [16].

These probiotic species possess immunomodulatory, anti-inflammatory, antiviral, antioxidant, anticancer, antidiabetic and hypolipidemic properties, produce a number of enzymes, vita-

mins, other chemicals, and exhibit direct and indirect antagonistic activity against other microorganisms [8,9,10,14,16,17,18,19]. Each probiotic microorganism has specific and sometimes unique biological properties. Preferring multi-strain / species probiotic preparations over single-strain ones is based on the idea of extending the spectrum of benefit to the host organism, obtaining additional or even synergistic effects from the combination of probiotic microorganisms [20,21]. Although some researchers argue that multi-strain mixtures are not significantly more effective than single-strain probiotics, others believe that combining probiotic microorganisms is a promising strategy to improve the efficacy and prevent side effects of probiotic therapy [12,21,22,23,24]. Experimental data have been obtained indicating a higher effectiveness of multi-strain probiotics against pathogens compared to single-strain probiotics [24,25]. However, there are few studies that shed light on the nature of the interaction of probiotic microorganisms and the mechanisms of their mutual influence, leading to an increase in their joint effect [20].

Properties of bacteria and the spectrum of substances produced by them depend both on the influence of coexisting microorganisms and on the physicochemical parameters of the environment. Determining the conditions that enhance the inhibitory potential of probiotic bacilli is an important step towards increasing their effectiveness against pathogenic bacteria and pathobionts.

Aim

The aim of this study was to determine whether the inhibitory potential of spore-forming probiotic species: *Alkalihalobacillus clausii* (previously known as *B. clausii*), *Heyndrickxia coagulans* (formerly *B. coagulans*) and *B. subtilis* increases under conditions of co-cultivation or nutrient depletion (starvation).

Materials and methods

The commercial strains of bacilli from three probiotic preparations were used in this study:

– four multiresistant strains of *A. clausii* ENTPro: O/C (CNCM I-276), N/R (CNCM I-274), SIN (CNCM I-275) and T (CNCM I-273) from Enterogermina (Sanofi-Aventis S. P. A., Italy, contains a mixture of spores ($2.5 \times 10^9/5$ mL);

– *H. coagulans* from Lactovit forte (Mili Healthcare, Great Britain, contains 1.2×10^8 spores/capsule);

– *B. subtilis* UCM B-5020 from Subalin (Biopharma, Ukraine, contains spores and lyophilized microbial mass of a live antagonistically active culture (1×10^9 CFU/sachet).

Suspensions prepared from probiotic preparations were heated for 15 min at 70 °C in order to kill bacteria and activate spores. Then inoculums, containing spores of one bacillus species or mixtures of two or three bacillus species in equal concentration ($\sim 10^9$ /ml), were seeded onto the surface of nutrient agar (NA, HiMedia, India) or “semi-starvation” agar (ssNA) using the “lawn” method or inoculated into nutrient broth (NB, HiMedia, India) or “semi-starvation” broth (ssNB) in 10-ml culture tubes at a ratio of 1:10 (1 part of inoculum and 9 parts of broth) and incubated at 37 °C for 48 hours.

Such pathobionts were used as indicator bacteria: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. aureus*), *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*). Agar precultures of indicator bacteria were obtained by cultivating overnight aerobically at 37 °C on Mueller–Hinton agar (Merck, Germany).

The inoculum from indicator bacteria was prepared by suspending a few colonies from the agar preculture in sterile saline solution (0.9 % NaCl) and adjusting the suspension to a turbidity equaling 0.5 on the McFarland scale (approximately corresponds to a cell density of $\sim 10^8$ cells/ml). The turbidity of the suspension was measured using the Densi-La-Meter device (Pliva-Lachema Diagnostika, Czech Republic).

The inhibitory potential of mono-, double and triple mix-cultures of probiotic *Bacillus* species against pathobionts was studied by two modified diffusion methods. The effect of probiotic bacilli cultivated on the surface of a solid nutrient medium (NA and ssNA) on the growth of indicator bacteria was studied using the agar block method [26]. The influence of probiotic bacilli grown in liquid nutrient medium (NB and ssNB) on the growth of indicator bacteria was evaluated using an optimized spot-on-lawn assay with wells [27].

Agar block method. The inoculum from bacilli spores of one species or double / triple mixtures was sown on the surface of the NA or ssNA by “lawn” method and cultivated at 37 °C for 48 hours. It was assumed that during cultivation, diffusion into the agar of metabolites produced by bacteria, including those with inhibitory properties, occurred. Agar blocks (cylinders with a diameter of 5 mm and a height of 3 mm) with grown test cultures were cut out in the conditions of sterility. The resulting blocks were installed on the surface of freshly seeded (by inoculum from indicator bacteria) and dried agar. Plates with agar blocks were kept at a temperature of $+8 \pm 2$ °C for an hour for the diffusion of metabolites of the test culture from the blocks into the agar with the indicator

culture and in order to avoid premature growth of the latter. Then the plates were incubated at 37 °C. The results of the experiment were taken into account after 24 hours. The inhibitory activity of the test culture against the indicator culture was assessed based on the diameter of a growth inhibition zone of the latter: weak (7–14 mm), moderate (15–24 mm); pronounced (25–35 mm) and strong (36 mm and more), as described previously [28].

Spot-on-lawn assay. 800 μ l of inoculum from indicator preculture was mixed with 16 ml of 0.7 % soft NA and directly poured onto a plate with 1.5 % NA. The plate was dried for 50 min. Into the wells with a diameter of 10 mm, made within soft NA, were added 50 μ l of mono-, double or triple mix-culture of bacilli grown in NB or ssNB. The plate was incubated at 37 °C for 24 h. The inhibitory activity of the bacilli cultures and their mixtures against the indicator cultures was evaluated based on the diameter of a growth inhibition zone as described above.

All experiments were repeated in triplicate at least three times. Data were expressed as the mean \pm SD. Significant differences ($p < 0.05$) between the compared indicators were determined by performing one-way analysis of variance (ANOVA) followed by post hoc multiple comparisons using Bonferroni adjustment.

Results

The results of the study demonstrated the presence of inhibitory activity in both mono- and mixed probiotic test cultures against indicator cultures of pathobionts. When using the agar block method, inhibition was manifested in the expansion of probiotic cultures beyond the agar blocks (Fig. 1, b) and the formation of a transparent zone of no growth (Fig. 1, c) separating the indicator cultures of pathobionts from the probiotic ones. The appearance of isolated colonies of probiotic bacilli in the transparent zone and the pathobiont growth zone (Fig. 1, d) prompted the use of an additional indicator to characterize the growth of test cultures. Thus, a dissemination index was introduced, indicating the weak “+” (1–2 colonies), moderate “++” (3–5 colonies), pronounced “+++” (5–10 colonies), strong “++++” (more than 10 colonies) ability or lack “–” of ability of probiotic mono- and mix-cultures to disseminate.

The inhibitory activity and dissemination ability of probiotic cultures varied depending on their cultivation conditions. Probiotic bacteria grown as monocultures on NA were characterized by moderate inhibitory activity against *S. aureus* and weak ability to disseminate (Table 1, Fig. 2a, b). There were no significant differences in inhibitory activity between the three probiotic monocultures. The indicators of antistaphylococcal activity of probiotic mix-cultures grown on NA were significantly higher than those of monocultures (Table 1, Fig. 2c) and corresponded to moderate (*A. clausii* + *H. coagulans* and *A. clausii* + *B. subtilis* mix-cultures) or pronounced (*H. coagulans* + *B. subtilis* and *A. clausii* + *H. coagulans* + *B. subtilis* mix-cultures) inhibition. Zones of growth inhibition of the indicator culture under the influence of mix-cultures were significantly wider due to the greater expansion of probiotic cultures beyond the agar blocks and the extension of the transparent zones of no growth. In addition, there was a significant increase in the number of disseminates, indicating a higher ability to spread of mix-cultures than monocultures.

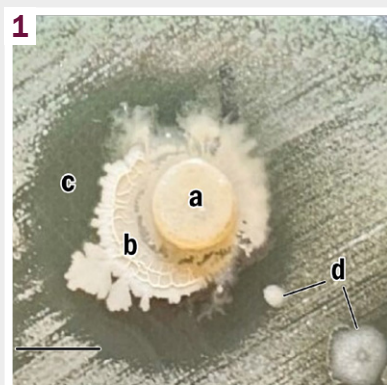


Fig. 1. Representative photograph of an agar block with a probiotic culture (**a**), surrounded by a zone of growth inhibition of the indicator culture (**b**: expansion of the probiotic culture beyond the agar block; **c**: transparent zone of no growth of cultures) and disseminates (**d**) – colonies of probiotic bacteria in the transparent zone / pathobiont growth zone. The scale bar is 5 mm.



Fig. 2. Representative photographs, demonstrating the increase in inhibitory activity and dissemination ability of probiotic bacteria under conditions of co-cultivation. Agar blocks with tested probiotic monocultures: *H. coagulans* (**2**), *B. subtilis* (**3**) and *H. coagulans* + *B. subtilis* mix-culture (**6**) on the surface of NA with *S. aureus* as indicator culture. The scale bar is 5 mm.

Table 1. The inhibitory activity and dissemination ability of probiotic cultures, studied using the agar block method (mean \pm SD, mm)

Test cultures		Indicator cultures					
		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		NA	ssNA	NA	ssNA	NA	ssNA
Monocultures	<i>A. clausii</i>	19.0 \pm 2.4 +	25.8 \pm 2.3* ++++	9.3 \pm 1.8 +	15.2 \pm 1.5* ++	18.0 \pm 2.3 +	26.0 \pm 2.3* ++
	<i>H. coagulans</i>	18.0 \pm 3.5 +	29.3 \pm 4.0* ++++	11.8 \pm 1.5 ++	15.7 \pm 0.8* +++	20.1 \pm 2.0 +	29.8 \pm 2.7* ++
	<i>B. subtilis</i>	17.3 \pm 2.0 +	24.7 \pm 3.0* ++	12.3 \pm 1.4 +	15.3 \pm 1.8* ++	19.0 \pm 2.6 +	27.0 \pm 1.8* ++
Mix-cultures	<i>A. clausii</i> + <i>H. coagulans</i>	24.7 \pm 3.0* +++	27.8 \pm 2.3* ++++	19.2 \pm 3.0* ++	17.8 \pm 2.5* +++	27.7 \pm 2.2* +++	29.0 \pm 3.0* ++
	<i>A. clausii</i> + <i>B. subtilis</i>	24.0 \pm 1.8* +++	26.0 \pm 1.4* ++++	17.8 \pm 1.7* ++	17.3 \pm 1.4* +++	28.8 \pm 2.9* +++	28.1 \pm 2.3* ++
	<i>H. coagulans</i> + <i>B. subtilis</i>	26.0 \pm 3.8* ++++	26.7 \pm 2.3* ++++	13.8 \pm 2.6* ++	16.3 \pm 0.8* +++	28.0 \pm 3.1* ++	27.2 \pm 2.6* ++
	<i>A. clausii</i> + <i>H. coagulans</i> + <i>B. subtilis</i>	25.7 \pm 3.3* ++++	27.3 \pm 1.8* ++++	16.8 \pm 1.7* ++	19.3 \pm 1.4* +++	29.8 \pm 2.9* ++	28.9 \pm 2.2* ++

*: the differences are significant compared to the inhibitory activity of probiotic monocultures, grown on NA, $p < 0.05$.

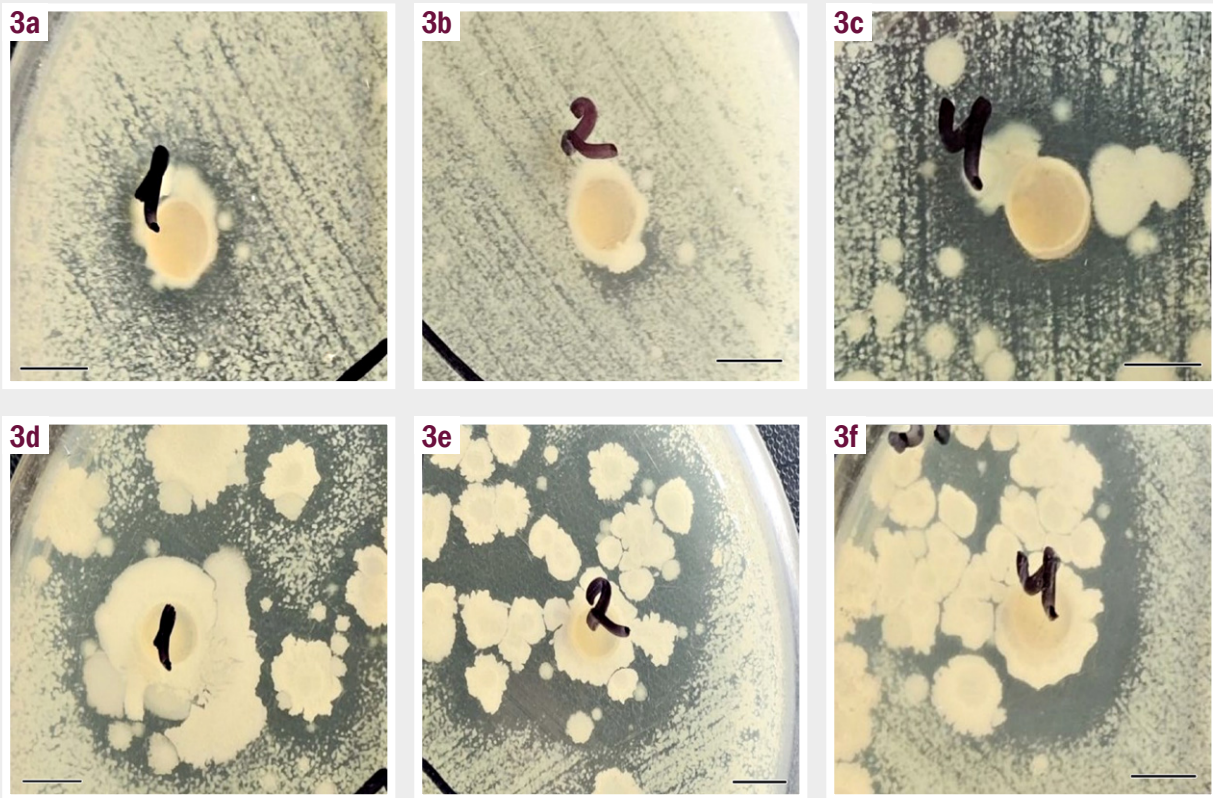


Fig. 3. Representative photographs demonstrating the increase in inhibitory activity and dissemination ability of probiotic bacilli under nutrient depletion (starvation) conditions. Agar blocks with tested probiotic monocultures: *A. clausii* (1), *H. coagulans* (2) and *A. clausii* + *H. coagulans* mix-culture (4) on the surface of NA (a, b, c) and ssNA (d, e, f) with *S. aureus* as indicator culture. The scale bar is 5 mm.

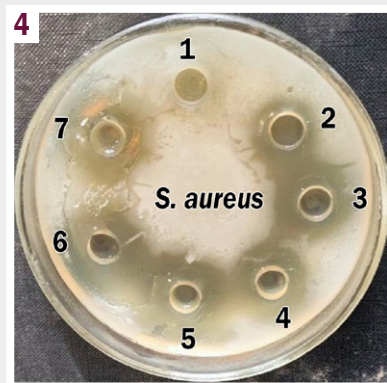


Fig. 4. Representative photograph, demonstrating inhibitory activity of probiotic mono- and mix-cultures: *A. clausii* (1), *H. coagulans* (2), *B. subtilis* (3), *A. clausii* + *H. coagulans* (4), *A. clausii* + *B. subtilis* (5), *H. coagulans* + *B. subtilis* (6), *A. clausii* + *H. coagulans* + *B. subtilis* (7) against *S. aureus*, studied by spot-on-lawn assay.

Probiotic monocultures grown on ssNA (Table 1, Fig. 3d, e) also showed a significantly greater inhibitory effect on the growth of the *S. aureus* indicator culture and dissemination ability than monocultures grown on NA (Table 1, Fig. 3a, b). There was an increase in the expansion of probiotic monocultures beyond the agar blocks and an extension of the transparent zone of no growth to indicators corresponding to pronounced inhibition. *A. clausii* and *H. coagulans* cultures grown on ssNA had a strong, and *B. subtilis* had a moderate ability to disseminate (Table 1). All mix-cultures grown on ssNA exhibited pronounced inhibitory

activity and strong ability to disseminate on plates with an indicator culture of *S. aureus*. *A. clausii* + *H. coagulans* and *A. clausii* + *B. subtilis* mix-cultures grown on ssNA demonstrated higher dissemination ability than mix-cultures grown on NA (Table 1, Fig. 3c, f).

Thus, the inhibitory activity against *S. aureus* and ability to disseminate of studied probiotic cultures increased when they were co-cultivated or grown in a semi-starved media.

Probiotic monocultures grown on NA had a weak inhibitory effect on the *E. coli* indicator culture (Table 1) mainly due to ex-

Table 2. The inhibitory activity of probiotic cultures, studied using spot-on-lawn assay (mean \pm SD, mm)

Test cultures		Indicator cultures					
		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		NB	ssNB	NB	ssNB	NB	ssNB
Mono-cultures	<i>A. clausii</i>	16.3 \pm 2.3	18.3 \pm 2.7	19.3 \pm 2.9	19.3 \pm 1.8	23.2 \pm 3.6	21.9 \pm 1.9
	<i>H. coagulans</i>	19.2 \pm 1.9	19.7 \pm 2.2	20.3 \pm 1.7	21.2 \pm 1.2	23.9 \pm 2.7	24.3 \pm 2.1
	<i>B. subtilis</i>	20.3 \pm 2.1	20.7 \pm 1.8	21.3 \pm 2.2	21.7 \pm 2.2	22.8 \pm 2.9	24.0 \pm 2.5
Mix-cultures	<i>A. clausii</i> + <i>H. coagulans</i>	22.7 \pm 1.6*	22.3 \pm 1.6*	24.7 \pm 2.2*	23.7 \pm 1.8*	26.4 \pm 2.2*	26.8 \pm 2.5*
	<i>A. clausii</i> + <i>B. subtilis</i>	24.2 \pm 1.5*	23.3 \pm 2.2*	24.3 \pm 2.3*	25.0 \pm 2.0*	28.1 \pm 2.6*	26.3 \pm 2.0*
	<i>H. coagulans</i> + <i>B. subtilis</i>	24.0 \pm 1.8*	23.2 \pm 1.5*	25.2 \pm 2.8*	26.0 \pm 2.8*	27.1 \pm 2.5*	27.8 \pm 1.7*
	<i>A. clausii</i> + <i>H. coagulans</i> + <i>B. subtilis</i>	23.3 \pm 2.3*	24.3 \pm 1.6*	26.2 \pm 1.6*	26.8 \pm 2.1*	28.0 \pm 1.1*	29.1 \pm 2.6*

*: the differences are significant compared to the inhibitory activity of probiotic monocultures, grown in NB and ssNB, $p < 0.05$.

pansive growth beyond the agar blocks. The transparent zone of no growth of the indicator culture was barely noticeable or absent altogether. The dissemination index was low (*A. clausii* and *B. subtilis*) or moderate (*H. coagulans*). The inhibitory activity of mix-cultures grown on NA, as well as mono- and mix-cultures grown on ssNA, was significantly higher and corresponded to "moderate". However, inhibition also occurred predominantly due to expansive growth of probiotic cultures. The transparent zones of growth inhibition of the indicator culture were narrow. There were no significant differences between the inhibitory activity against *E. coli* of monocultures grown on ssNA and mix-cultures grown on both cultivation media. Co-cultivation and cultivation in a semi-starved media led to an increase in the ability of probiotic cultures to disseminate over the surface of plate with growing *E. coli* indicator culture.

Zones of growth inhibition of *P. aeruginosa* culture around agar blocks with probiotic monocultures, cultivated on NA, were consistent with "moderate inhibitory activity" in diameter (Table 1). However, in these zones, very weak growth of the indicator culture was observed in the form of a barely noticeable, delicate translucent coating, which indicated the bacteriostatic activity of probiotic cultures against *P. aeruginosa*. The ability of probiotic monocultures grown on NA to disseminate was weak. Cultivation of probiotic cultures on ssNA and co-cultivation on both cultivation media resulted in an increase in the diameters of growth inhibition zones of the indicator culture to sizes corresponding to "pronounced inhibitory activity", and an increase in the ability of probiotic cultures to disseminate.

The results of studying the inhibitory activity of probiotic mono- and mixed-cultures against pathobionts using the spot-on-lawn assay were in many ways similar to the results obtained using the agar block method. They confirmed that co-cultivation of probiotic bacilli leads to an increase in their inhibitory activity against pathobionts (Table 2, Fig. 4). However, the use of this method did not reveal significant differences between the inhibitory activity of probiotic cultures grown before sowing into wells in NB and ssNB.

Discussion

The data obtained in this *in vitro* study clearly demonstrated the effect of enhancing the inhibitory potential of probiotic spore formers when they were co-cultivated together. The increase in inhibitory activity was manifested both in the enhanced expansion of probiotic mix-cultures beyond the agar blocks and extension of the transparent zones of no growth of the indicator culture. In addition, co-culturing of probiotic bacilli resulted in an increase in the number of their disseminates in the transparent no-growth zone and the growth zone of the indicator culture. Expansion and dissemination characterize the ability of bacteria to spread across the surface of a habitat for surface colonization. This ability is realized through various mechanisms of surface-associated motility. The use of a particular movement mechanism depends on the circumstances and involves different genes [29].

Bacilli can colonize surfaces using swimming (flagellum-mediated movement of single cells in a three-dimensional fluid space), swarming (flagellum-dependent multicellular coordinated migration in a thin liquid film on a semi-solid surface) or sliding (flagellum-independent growth-powered passive surface translocation) [29,30,31]. Under the conditions of this experiment, the spread of bacilli was possible both by swarming and sliding. The data on the increase in the ability of bacilli to spread on the surface under conditions of co-culture agree well with the results of our earlier comparative study of bacilli motility in mono- and mix-cultures and indicate the ability of bacilli to stimulate each other's motility [32]. The increased ability of probiotic cultures to spread when grown in semi-starved media is likely due to the movement of bacilli along the surface towards nutrient-rich areas with optimal conditions for growth and reproduction. The obtained data suggest that probiotic bacilli in a community, especially under starvation conditions, have a higher ability for early colonization than monocultures growing under conditions of nutrient abundance.

The direct antagonistic activity of probiotic bacilli is realized due to the antimicrobial substances, including bacteriocins (clausin, gallidermin, subtilin, etc.) and bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) [10,28,33,34]. Bacteriocins are a class of

allelopathic compounds produced by bacteria that can confer a competitive advantage by targeting and killing close competitors [35,36]. These antimicrobial peptides can have a bactericidal/bacteriostatic effect on both closely related and unrelated microorganisms [37,38,39]. The production of bacteriocins is metabolically demanding, so bacteria have developed mechanisms to regulate bacteriocin production depending on local conditions and especially the social environment [35,36,40].

Usually, a bacteriocinogenic strain maintains a low level of bacteriocin production until a competitor appears in its environment. Bacteriocin production increases significantly at high cell densities when competition for resources becomes high [35]. Probiotic bacteria, when co-cultured, can act toward each other as inducers of bacteriocin formation. We were prompted to this conclusion by the results of a previous study [32]. In addition, studies by several other authors have shown that co-cultivation of bacteria or bacteria with fungi can enhance the production of bacteriocins [41,42].

We also hypothesized that under conditions of nutrient deficiency, which increases competition between co-cultivated species of probiotic bacilli, their production of bacteriocins and other inhibitory substances would increase. As a result, it is possible to increase the overall inhibitory potential of mixed probiotic cultures against pathobionts and pathogenic bacteria. The results of this study confirmed our assumptions. The inhibitory activity of spore-forming probiotic species increased under conditions of co-cultivation (using both research methods) and nutrient depletion (using agar block method). The absence of the effect of increased inhibitory activity against the pathobionts of probiotic cultures grown in ssNB can be explained by the peculiarities of the research method. The spot-on-lawn assay involves the cultivation of probiotic cultures under the same conditions of nutrients availability. And presumably in 48 hours of cultivation under the same conditions, the expected difference in the inhibitory activity of probiotic cultures grown under different conditions of nutrients availability was not observed.

Conclusions

1. The inhibitory activity and dissemination ability of spore-forming probiotic species: *A. clausii*, *H. coagulans* and *B. subtilis* increases under conditions of co-cultivation or nutrient depletion (starvation).

2. The demonstrated effect of increasing the inhibitory potential of probiotic spore-forming bacteria by co-cultivation and application of nutrient depletion conditions requires further study and clarification of the underlying molecular mechanisms.

Prospects for further research: obtained results will be applied in the further development of probiotic preparations based on consortia of spore-forming bacteria.

Funding

The study is a fragment of the research project of the State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology National Academy of Medical Sciences of Ukraine": "Study of the stress factors influence on the antagonistic properties of spore-forming probiotic bacteria", state registration No. 0122U000422 (2022–2024).

Information about the authors:

Knysh O. V., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Leader Researcher of Laboratory and Clinical Department of Molecular Immunopharmacology, State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

ORCID ID: 0000-0002-4105-1299

Martynov A. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory and Clinical Department of Molecular Immunopharmacology, State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

ORCID ID: 0000-0003-1428-0085

Osolodchenko T. P., PhD, Head of the Laboratory of Biochemistry and Biotechnology, State Institution "I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

ORCID ID: 0000-0003-3589-7308

Відомості про авторів:

Книш О. В., д-р мед. наук, старший дослідник, провідний науковий співробітник лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Мартинов А. В., д-р фарм. наук, професор, зав. лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Осолодченко Т. П., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, зав. лабораторії біохімії та біотехнології, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

References

- Ghuneim LA, Raghuvanshi R, Neugebauer KA, Guzirov DV, Christian MH, Schena B, et al. Complex and unexpected outcomes of antibiotic therapy against a polymicrobial infection. ISME J. 2022;16(9):2065-75. doi: 10.1038/s41396-022-01252-5
- Liu X, Liu F, Ding S, Shen J, Zhu K. Sublethal Levels of Antibiotics Promote Bacterial Persistence in Epithelial Cells. Adv Sci (Weinh). 2020;7(18):1900840. doi: 10.1002/advs.201900840
- Ranjan A. The use of probiotics, prebiotics, and synbiotics as an alternative to antibiotics. In: Alternatives to Antibiotics. Singapore: Springer Nature Singapore; 2022. p. 449-65. doi: 10.1007/978-981-19-1854-4_18
- Zhu J, Chen Y, Imre K, Arslan-Acaroz D, Istanbulgul FR, Fang Y, et al. Mechanisms of probiotic Bacillus against enteric bacterial infections. One Health Adv. 2023;1(1). doi: 10.1186/s44280-023-00020-0
- Aponte M, Murru N, Shoukat M. Therapeutic, Prophylactic, and Functional Use of Probiotics: A Current Perspective. Front Microbiol. 2020;11:562048. doi: 10.3389/fmicb.2020.562048
- Das TK, Pradhan S, Chakrabarti S, Mondal KC, Ghosh K. Current status of probiotic and related health benefits. Applied Food Research. 2022;2(2):100185. doi: 10.1016/j.afres.2022.100185
- Elshaghabee FM, Rokana N, Gulhane RD, Sharma C, Panwar H. Bacillus As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. Front Microbiol. 2017;8. doi: 10.3389/fmicb.2017.01490
- Lee NK, Kim WS, Paik HD. Bacillus strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. Food Sci Biotechnol. 2019;28(5):1297-305. doi: 10.1007/s10068-019-00691-9
- Soares MB, Almada CN, Pereira EP, Ferreira BM, Balthazar CF, Khorshidian N, et al. Review – Sporeforming probiotic bacteria: Characteristics, health benefits, and technological aspects for their applications in foods and beverages. Trends Food Sci Technol. 2023;138:453-69. doi: 10.1016/j.tifs.2023.06.029
- Ghelardi E, Abreu y Abreu AT, Marzet CB, Álvarez Calatayud G, Perez M, Moschione Castro AP. Current Progress and Future Perspectives on the Use of Bacillus clausii. Microorganisms. 2022;10(6):1246. doi: 10.3390/microorganisms10061246
- Santacroce L, Charitos IA, Bottalico L. A successful history: probiotics and their potential as antimicrobials. Expert Rev Anti Infect Ther. 2019;17(8):635-45. doi: 10.1080/14787210.2019.1645597
- Mazkour S, Shekarforoush SS, Basiri S. The effects of supplementation of Bacillus subtilis and Bacillus coagulans spores on the intestinal microflora and growth performance in rat. Iran J Microbiol. 2019;11(3):260-6. doi: 10.18502/ijm.v11i3.133

13. Management Board members, Executive Director, Operational Management. Qualified presumption of safety (QPS) [Internet]. European Food Safety Authority. 2024 [cited 2024 Nov 16]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/qualified-presumption-safety-qps>
14. Cao J, Yu Z, Liu W, Zhao J, Zhang H, Zhai Q, et al. Probiotic characteristics of *Bacillus coagulans* and associated implications for human health and diseases. *J Funct Foods*. 2020;64(103643):103643. doi: [10.1016/j.jff.2019.103643](https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103643)
15. GRAS Notices (GRN) No. 660 *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 spores. [Fda.gov](https://www.fda.gov/files/food/published/GRAS-Notice-000660---Bacillus-coagulans-GBI-30-6086.pdf). [cited 2024 Nov 16]. Available from: <https://www.fda.gov/files/food/published/GRAS-Notice-000660---Bacillus-coagulans-GBI-30-6086.pdf>
16. Sorokulova I. Modern Status and Perspectives of *Bacillus* Bacteria as Probiotics. *J Probiotics Health*. 2013;1(4): 1000e106. doi: [10.4172/2329-8901.1000e106](https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000e106)
17. Zhang L, Yi H. Potential antitumor and anti-inflammatory activities of an extracellular polymeric substance (EPS) from *Bacillus subtilis* isolated from a housefly. *Sci Rep*. 2022;12(1):1383. doi: [10.1038/s41598-022-05143-9](https://doi.org/10.1038/s41598-022-05143-9)
18. Fijan S, Fijan T, Connil N. Overview of Probiotic Strains of *Weizmannia coagulans*, Previously Known as *Bacillus coagulans*, as Food Supplements and Their Use in Human Health. *Applied Microbiology*. 2023;3(3):935-47. doi: [10.3390/applmicrobiol3030064](https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3030064)
19. Su Y, Liu C, Fang H, Zhang D. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microb Cell Fact*. 2020;19(1):173. doi: [10.1186/s12934-020-01436-8](https://doi.org/10.1186/s12934-020-01436-8)
20. Puvanasundram P, Chong CM, Sabri S, Yusoff MdS, Karim M. Multi-strain probiotics: Functions, effectiveness and formulations for aquaculture applications. *Aquac Rep*. 2021;21:100905. doi: [10.1016/j.aqrep.2021.100905](https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100905)
21. Ouwehand AC, Invernici MM, Furlaneto FAC, Messori MR. Effectiveness of Multistrain Versus Single-strain Probiotics: Current Status and Recommendations for the Future. *J Clin Gastroenterol*. 2018;52 Suppl 1, Proceedings from the 9th Probiotics, Prebiotics and New Foods, Nutraceuticals and Botanicals for Nutrition & Human and Microbiota Health Meeting, held in Rome, Italy from September 10 to 12, 2017:S35-S40. doi: [10.1097/MCG.0000000000001052](https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001052)
22. McFarland LV, Huang Y, Wang L, Malfertheiner P. Systematic review and meta-analysis: Multi-strain probiotics as adjunct therapy for *Helicobacter pylori* eradication and prevention of adverse events. *United European Gastroenterol J*. 2016;4(4):546-61. doi: [10.1177/2050640615617358](https://doi.org/10.1177/2050640615617358)
23. Knysch OV. Bifidogenic properties of cell-free extracts derived from probiotic strains of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019;10(1):124-8. doi: [10.15421/021919](https://doi.org/10.15421/021919)
24. Fijan S, Sulc D, Steyer A. Study of the In Vitro Antagonistic Activity of Various Single-Strain and Multi-Strain Probiotics against *Escherichia coli*. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(7):1539. doi: [10.3390/ijerph15071539](https://doi.org/10.3390/ijerph15071539)
25. Bernatek M, Żukiewicz-Sobczak W, Lachowicz-Wiśniewska S, Piątek J. Factors Determining Effective Probiotic Activity: Evaluation of Survival and Antibacterial Activity of Selected Probiotic Products Using an "In Vitro" Study. *Nutrients*. 2022;14(16):3323. doi: [10.3390/nu14163323](https://doi.org/10.3390/nu14163323)
26. Hong-Thao PT, Mai-Linh NV, Hong-Lien NT, Van Hieu N. Biological Characteristics and Antimicrobial Activity of Endophytic *Streptomyces* sp. TQR12-4 Isolated from Elite Citrus nobilis Cultivar Ham Yen of Vietnam. *Int J Microbiol*. 2016;2016:7207818. doi: <http://doi.org/10.1155/2016/7207818>
27. Cao Y, Pi H, Chandransu P, Li Y, Wang Y, Zhou H, et al. Antagonism of Two Plant-Growth Promoting *Bacillus velezensis* Isolates Against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. *Sci Rep*. 2018;8(1):4360. doi: [10.1038/s41598-018-22782-z](https://doi.org/10.1038/s41598-018-22782-z)
28. Chechet OM, Kovalenko VL, Horbatiuk OI, Gaidei OS, Kravtsova OL, Andriyashchuk VO, et al. Antagonistic properties of a probiotic preparation containing bacteria of the genera *Bacillus* and *Enterococcus*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2022;13(4):362-6. doi: [10.15421/022247](https://doi.org/10.15421/022247)
29. Bartolini M, Grau R. Assessing Different Ways of *Bacillus subtilis* Spreading over Abiotic Surfaces. *Bio Protoc*. 2019;9(22):e3425. doi: [10.21769/bioprotoc.3425](https://doi.org/10.21769/bioprotoc.3425)
30. Rüttschlin S, Böttcher T. Inhibitors of Bacterial Swarming Behavior. *Chemistry*. 2020;26(5):964-79. doi: [10.1002/chem.201901961](https://doi.org/10.1002/chem.201901961)
31. Jeckel H, Jelli E, Hartmann R, Singh PK, Mok R, Totz JF, et al. Learning the space-time phase diagram of bacterial swarm expansion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(5):1489-94. doi: [10.1073/pnas.1811722116](https://doi.org/10.1073/pnas.1811722116)
32. Knysch OV, Martynov AV, Pokhyl SI, Skliar NI. The behavior of the *Bacillus* probiotic species under conditions of co-cultivation. *Modern medical technology*. 2023;4(4):59-69. doi: [10.34287/mmt.4\(59\).2023.8](https://doi.org/10.34287/mmt.4(59).2023.8)
33. Darbandi A, Asadi A, Mahdizadeh Ari M, Ohadi E, Talebi M, Halaj Zadeh M, et al. Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. *J Clin Lab Anal*. 2021;36(1):e24093. doi: [10.1002/jcla.24093](https://doi.org/10.1002/jcla.24093)
34. Bartel LC, Abrahamovich E, Mori C, López AC, Alippi AM. *Bacillus* and *Brevibacillus* strains as potential antagonists of *Paenibacillus* larvae and *Ascosphaera apis*. *J Apic Res*. 2018;58(1):117-32. doi: [10.1080/00218839.2018.1495439](https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1495439)
35. Bhattacharya A, Pak HT, Bashey F. Plastic responses to competition: Does bacteriocin production increase in the presence of nonself competitors? *Ecol Evol*. 2018;8(14):6880-8. doi: [10.1002/ece3.4203](https://doi.org/10.1002/ece3.4203)
36. Gonzalez D, Mavridou DA. Making the Best of Aggression: The Many Dimensions of Bacterial Toxin Regulation. *Trends Microbiol*. 2019;27(11):897-905. doi: [10.1016/j.tim.2019.05.009](https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.05.009)
37. Ghazaei C. Study of the Effect of Bacteriocin-producing *Bacillus subtilis* Strains on Beta-lactamase-producing Pathogenic Bacteria. *J Clin Res Paramed Sci*. 2022;11(2). doi: [10.5812/jcrps-130208](https://doi.org/10.5812/jcrps-130208)
38. Knysch O, Martynov A. Nisin: Prerequisites and Prospects for Application in the Medical Field. *Galician medical journal*. 2023;30(1):E202316. doi: [10.21802/gmj.2023.1.6](https://doi.org/10.21802/gmj.2023.1.6)
39. Soltani S, Hammami R, Cotter PD, Rebuffat S, Said LB, Gaudreau H, et al. Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. *FEMS Microbiol Rev*. 2021;45(1):fuaa039. doi: [10.1093/femsre/fuaa039](https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa039)
40. Kern L, Abdeen SK, Kolodziejczyk AA, Elinav E. Commensal inter-bacterial interactions shaping the microbiota. *Curr Opin Microbiol*. 2021;63:158-71. doi: [10.1016/j.mib.2021.07.011](https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.07.011)
41. Nie R, Zhu Z, Qi Y, Wang Z, Sun H, Liu G. Bacteriocin production enhancing mechanism of *Lactiplantibacillus paraplantarum* RX-8 response to *Wickerhamomyces anomalus* Y-5 by transcriptomic and proteomic analyses. *Front Microbiol*. 2023;14:1111516. doi: [10.3389/fmicb.2023.1111516](https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1111516)
42. Gutiérrez-Cortés C, Suarez H, Buitrago G, Nero LA, Todorov SD. Enhanced Bacteriocin Production by *Pediococcus pentosaceus* 147 in Co-culture With *Lactobacillus plantarum* LE27 on Cheese Whey Broth. *Front Microbiol*. 2018;9:2952. doi: [10.3389/fmicb.2018.02952](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02952)

Множинні гострі ускладнення трансартеріальної хімієMBOLІЗАЦІЇ ПЕЧІНКОВИХ МЕТАСТАЗІВ

Р. Н. Абу Шамсія¹ , Ю. М. Захараш² *2,A,E,F

¹ТОВ «ДІЄВО Центр хірургічних рішень», м. Київ, Україна, ²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

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

Ключові слова:

рак підшлункової залози, печінка, метастази, трансартеріальна хімієMBOLІЗАЦІЯ.

Keywords:

pancreatic cancer, liver, metastases, transarterial chemoembolization.

Надійшла до редакції /
Received: 23.09.2024

Після доопрацювання /
Revised: 14.10.2024

Схвалено до друку /
Accepted: 18.10.2024

Конфлікт інтересів:

відсутній.

Conflicts of interest:

authors have no conflict of interest to declare.

*E-mail:

ymzakharash@gmail.com

Meta роботи – описати клінічний випадок лікування множинних гострих ускладнень після виконання трансартеріальної хімієMBOLІЗАЦІЇ печінкових метастазів у хворого на рак підшлункової залози.

Матеріали і методи. Хворий М. віком 52 роки звернувся по медичну допомогу до медичного центру хірургічних рішень «ДІЄВО». Раніше в інших лікувальних установах отримував лікування з приводу раку підшлункової залози. Вивчили анамнестичні дані хворого, особливості його попереднього лікування, у тому числі з виконанням трансартеріальної хімієMBOLІЗАЦІЇ печінкових метастазів. Хворому виконали клінічне обстеження, лабораторні й інструментальні дослідження, за результатами яких діагностовано множинні гострі ускладнення. Консиліум спеціалістів ухвалив рішення щодо оптимізації лікувальної тактики.

Результати. На 24 добу після госпіталізації хворого, після завершення лікування в медичному центрі у задовільному стані пацієнта виписано з клініки для подальшого амбулаторного лікування та спостереження в лікаря-онколога за місцем проживання. Для своєчасної діагностики гнійно-септичних ускладнень після трансартеріальної хімієMBOLІЗАЦІЇ печінкових метастазів, крім ультразвукового дослідження, комп'ютерної, магнітно-резонансної томографії, необхідні ретельне клінічне спостереження за пацієнтом і комплексне оцінювання стану його здоров'я.

Висновки. Ретельне клінічне спостереження за пацієнтом, його комплексне лабораторне та інструментальне обстеження з виконанням ультразвукового дослідження, комп'ютерної, магнітно-резонансної томографії тощо – важливі передумови своєчасної діагностики можливих гнійно-септичних ускладнень після виконання трансартеріальної хімієMBOLІЗАЦІЇ печінкових метастазів.

Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4(63). С. 318-322

Multiple acute complications of transarterial chemoembolization of liver metastases

R. N. Abu Shamsia, Yu. M. Zakharash

The aim of the work: to describe a clinical case of treatment of multiple acute complications after transarterial chemoembolization of liver metastases in a patient with pancreatic cancer.

Materials and methods. Patient M., 52 years old, sought medical help at the "DIEVO" Medical Center for Surgical Solutions. He had previously been treated for pancreatic cancer in other medical institutions. The patient's anamnestic data, features of his previous treatment, including transarterial chemoembolization of liver metastases, were studied. The patient underwent a clinical examination, laboratory and instrumental studies, as a result of which multiple acute complications were diagnosed. The council of specialists made a decision to optimize the treatment tactics.

Results. On the 24th day after hospitalization, the patient, after completing treatment at the medical center, was discharged from the clinic in a satisfactory condition for further outpatient treatment and observation by an oncologist at his place of residence. For timely diagnosis of purulent-septic complications after transarterial chemoembolization of liver metastases, in addition to ultrasound, computer, magnetic resonance imaging, careful clinical monitoring of the patient and a comprehensive assessment of his health are required.

Conclusions. Careful clinical observation of the patient, comprehensive laboratory and instrumental examination of the patient with ultrasound, computer, magnetic resonance imaging, etc. are important prerequisites for timely diagnosis of possible purulent and septic complications after transarterial chemoembolization of liver metastases.

Modern medical technology. 2024;16(4):318-322

Рак підшлункової залози з метастазуванням у печінку залишається однією з найскладніших проблем сучасної онкології. Це зумовлено переважно множинністю метастатичних уражень, що нерідко поширюються на половину і більше маси печінки, безуспішністю хірургічного лікування та системної хімієтерапії, агресивністю клінічного перебігу онкологічного процесу, короткою тривалістю життя таких пацієнтів тощо. У цих хворих зазвичай виявляють істотні порушення функціонального стану печінки, і тому системну хімієтерапію (враховуючи її доволі високу токсичність і недостатню ефективність таких препаратів) у клінічній практиці застосовують досить обмежено. Стереотаксичну променевою терапію та радіочастотну абляцію як методи локальної деструкції пухлинних уражень, зважаючи на їхню досить низьку ефективність і реальну загрозу розвитку тяжких постпроменевих ускладнень, також використовують доволі рідко [1,2].

Одним із ефективних методів лікування печінкових метастазів раку підшлункової залози (особливо великих розмірів) є трансартеріальна хімієемболізація (ТАХЕ). Цей ендovasкулярний інтервенційний хірургічний метод передбачає припинення кровопостачання первинної або метастатичної ракової пухлини, що призупиняє її ріст, у поєднанні з підведенням до неї хімієпрепаратів. Отже, використовуючи цю технологію, одночасно вводять препарат, який емболізує судину та блокує приплив крові до пухлини, і хімієпрепарат, що спочатку накопичується, а потім поступово вивільняється емболізуючими частинками, котрі надходять безпосередньо до новоутворення [3,4,5].

Важливо, що ТАХЕ дає змогу використовувати хімієпрепарати у високих ефективних дозах із мінімальною токсичною дією на організм пацієнта загалом, оскільки вони не потрапляють у системний кровообіг, а емболізуючі частинки поетапно доставляють їх безпосередньо до ракового вузла. Беручи до уваги, що рак печінки і підшлункової залози, на відміну від багатьох інших онкологічних захворювань, майже не відповідає на системну хімієтерапію, ТАХЕ при раку такої локалізації має істотні переваги над іншими методами. Трансартеріальна хімієемболізація під час раку печінки добре поєднується зі стереотаксичною променевою терапією та радіочастотною абляцією; за необхідності її можна виконувати повторно. Отже, ТАХЕ можна застосовувати як важливу складову комплексного лікування первинного та метастатичного раку печінки, а також як самостійний метод [1,3,6].

Методику хімієемболізації мікросферами запроваджено в клінічну практику на початку ХХІ століття. Винайдено емболізаційні препарати на основі мікросфер, що накопичують, а потім вивільняють хімієпрепарат; це дає змогу підвищити концентрацію хімієпрепарату, який доставляється до пухлини. Саме це робить ТАХЕ мікросферами значно ефективнішим видом хімієемболізації. Після закриття просвіту судин здорова паренхіма печінки майже не пошкоджується, оскільки здебільшого отримує кров із ворітної печінкової вени, а не з печінкової артерії. Процедура є доволі безпечною, її можна виконувати, навіть якщо пухлиною уражено до половини маси печінки, при розмірі новоутворення більше ніж 10 см; повторна процедура за потреби можлива вже через 4 тижні [3,4,5].

Нині для ТАХЕ печінки мікросферами використовують переважно два препарати: DC Bead і Hepaspheres. Мікросфери DC Bead виробляє британська компанія «Bioscompables». Їх виготовляють із полівінілалкоголю; діаметр – від 100 мк до 900 мк (кожен варіант розміру відповідає діаметру судини, у якій необхідно перекрити кровообіг). Доксорубіцин – основний хімієпрепарат, що застосовують для ТАХЕ, він вивільняється з мікросфер DC Bead протягом двох тижнів. Мікросфери Hepaspheres виробляє американська компанія «Biosphere Medical». Ці мікросфери складаються з сополімеру вінілацетату і метилакрилату, мають діаметр 30–60 мк, 50–100 мк, 100–150 мк або 150–200 мк [3,4]. Як хімієпрепарат також використовують доксорубіцин.

Зазвичай хімієемболізацію здійснюють під загальним знеболюванням, місцевою анестезією або пацієнта вводять у стан седації. Через невеликий розріз у верхній третині стегна у стегову артерію під рентгенконтролем вводять катетер, проводячи його до печінкової артерії. Для оцінювання ангіоархітекτονіки ураженої ділянки вводять рентгеноконтрастний розчин. Коли кінчик катетера досягає безпосередньо гілки печінкової артерії, що живить пухлину, вводять емболізуючий препарат разом із хімієпрепаратом. Після цього роблять контрольний рентгенівський знімок, аби оцінити правильність позиціонування кінчика катетера та переконатися в тому, що препарат введено правильно. Потім катетер видаляють, на місце розрізу накладають пов'язку. Процедура ТАХЕ триває 1,0–1,5 години.

Для оцінювання результату хімієемболізації через 4 тижні після першої процедури виконують комп'ютерну томографію (КТ) або магнітно-резонансну томографію (МРТ) з контрастуванням судин. Якщо контрастну речовину не виявляють у судині, яка живить пухлину, визначають припинення росту пухлини. Через 1,5–2,0 місяця виконують другу процедуру з контрольним обстеженням. Якщо контрастна речовина потрапляє до судин, виконують повторну процедуру з контрольним обстеженням уже через 4 тижні, щоб не збільшувати інтервал між процедурами. Хімієемболізація протипоказана при тромбозі ворітної печінкової вени або її великих гілок [3,6].

Ефективність хімієемболізації досить висока: майже у 2/3 хворих вдається помітно зменшити розміри пухлини або зупинити її ріст. Залежно від типу злویксної пухлини ефект циклу ТАХЕ зберігається протягом 10–14 місяців. Якщо через 6 місяців після циклу хімієемболізації ріст пухлини відновлюється, ТАХЕ можна повторити. Згідно з результатами клінічного дослідження, що здійснено у м. Барселона (Іспанія) за участю 27 пацієнтів, цикл хімієемболізації печінки продовжив життя на 1 рік у 92 %, на 2 роки – 89 % випадків. Показник виживаності протягом 3 років після циклу ТАХЕ, за результатами дослідження за участю 71 пацієнта в м. Афіни (Греція), становив 76,4 %. Для багатьох пацієнтів ТАХЕ стає можливістю дочекатися своєї черги на трансплантацію печінки [1,3,6].

Ускладнення після ТАХЕ можуть бути зумовлені токсичністю хімієпрепарату або селективною судинною маніпуляцією. Найчастіше як побічні ефекти визначають нудоту, больові відчуття у місці катетеризації судини, короткочасне погіршення самопочуття. Можливі також підвищення температури тіла, біль у животі, ушкодження здорової тканини печінки та

інших органів черевної порожнини через порушення правил виконання пункції, виражений спайковий процес як наслідок виконання первинного радикального хірургічного втручання, інфікування пухлини тощо. Однак сучасні технології та висока кваліфікація лікарів дають змогу мінімізувати ризик виникнення названих ускладнень. Складні побічні ефекти після TAXE нині виявляють лише у 5 % пацієнтів [2,3,6].

Мета роботи

Описати клінічний випадок лікування множинних гострих ускладнень після виконання трансартеріальної хіміємболізації печінкових метастазів у хворого на рак підшлункової залози.

Матеріали і методи дослідження

Хворий М. віком 52 роки госпіталізований до медичного центру хірургічних рішень «Дієво» 20.04.2024 р. зі скаргами на загальну слабкість, періодичне підвищення температури тіла до 38 °С, біль у животі, постійне помірне його здуття.

Діагноз під час госпіталізації: стан після хірургічного лікування (операція – панкреатодуоденальна резекція, 09.02.2022 р.) та поліхімієтерапії з приводу карциноми підшлункової залози (ED 02/22) – рТ3bN2(11/36) cM1 (HEP) LI VI Pn1 R1, емболізації метастазів у печінці (09.04.2024 р. в одній із клінік Німеччини); абсцеси сегментів VI, VII печінки; асцит-перитоніт (?); двобічний гідроторакс; хронічна субкомпенсована непрохідність кишечника.

Аденокарцинома підшлункової залози вперше діагностована у лютому 2022 року. У КНП «Запорізький регіональний протипухлинний центр» ЗОР 09.02.2022 р. виконано операцію – панкреатодуоденальну резекцію: рТ3bN2(11/36) cM0 Li VI Pn1 Ri. Із березня до липня 2022 року в одній із клінік міста Франкфурт-на-Майні (Німеччина) здійснено курси ад'ювантної системної хімієтерапії. Однак уже у листопаді 2022 року під час контрольної МРТ вперше виявлено метастазування пухлини в печінку. Розпочато терапію гемцитабіном із наб-паклітакселом із «дуже хорошою відповіддю», як було зазначено у виписці з історії хвороби, що була завершена у вересні 2023 року.

За місцем проживання за результатами КТ органів грудної та черевної порожнини 09.01.2024 р. констатовано прогресування захворювання: КТ-ознаки стану після панкреатодуоденальної резекції; осередки в печінці вторинного характеру; аеробілія; нодулярне потовщення лівого наднирника; кісти правої нирки; лівобічна пахвинна грижа; двобічні ділянки фіброзу легень. Порівнюючи з КТ органів черевної порожнини від 18.09.2023 р., виявили збільшення кількості та розмірів осередків у печінці; в іншому – відносно стабільні дані.

У зв'язку з прогресуванням захворювання пацієнт повторно перебував з 08.04.2024 до 16.04.2024 р. на лікуванні у клініці проф. Йогера (м. Франкфурт-на-Майні, Німеччина, історія хвороби № 1212367454). Як зазначено у виписці з історії хвороби, пацієнт «госпіталізований для виконання TAXE у зв'язку з метастазуванням у печінку раку підшлункової залози та для виконання біопсії печінки». Соматичний статус

і загальний стан пацієнта під час госпіталізації до клініки залишалися стабільними. Клінічно «не було жодних ознак інфекції». Загальний стан хороший, харчування нормальне, тургор шкіри нормальний. Тони серця ритмічні, чисті. Дихання везикулярне з обох боків, без хрипів. Живіт помірно здутий, при пальпації м'який, безболісний, захисного напруження м'язів немає. Печінка під час пальпації не збільшена, селезінка не пальпується. Кишкові шуми – без особливостей. Неврологічний статус – без особливостей. Фізіологічні виможення в нормі.

Для морфологічної верифікації новоутворення 09.04.2024 р. о 09:45 хворому виконано пункційну біопсію Bard Tru-Cut 18G метастатичного осередку в печінці діаметром майже 6 см.

Патологоанатомічний висновок від 09.04.2024 р.: пунктована тканина (печінка) з інфільтрацією злюккісною високополіморфною епітеліоїдною пухлиною, що відповідає низькодиференційованій аденокарциномі.

Хворому виконано процедуру TAXE (1 цикл DEBIRI-TACE) 09.04.2024 р. в термін від 11:11 до 14:30. Після місцевої анестезії з використанням препарату «Ксилонест» 1 % проведено пункцію правої загальної стегнової артерії. Встановлено катетер 6 F за Сельдингером. Зондування черевного стовбура – без ускладнень. За допомогою мікрокатетера Progreat зондовано праву центральну / краніальну гілку правої печінкової артерії (терапевтичне положення 1). Введено близько 25 % іринотекану 100 мг/DC Beads 100–300. Наступне зондування – ще однієї правобічної гілки, що спускається вниз (терапевтичне положення 2), введено 75 % суміші DC Beads. Пацієнт переніс ін'єкції без ускладнень. Виконано контрольну артеріографію судин черевної порожнини для визначення розташування кінчика катетера наприкінці процедури.

Особливості клінічного перебігу післяопераційного періоду.

Після виконання TAXE пацієнт мав скарги на запаморочення, підвищення температури тіла. У результаті бактеріологічного посіву крові виявлено бактеріємію *E. coli*. Розпочато антибіотикотерапію з використанням цефтріаксону, після введення якого у пацієнта виникли гіпертензія й тахікардія, тому цей препарат скасовано, призначено ампіцилін із сульбактамом із хорошим ефектом. Хворого виписано з клініки у задовільному стані 16.04.2024 р., хоча він мав скарги на загальну слабкість, запаморочення, нудоту, підвищення температури тіла, періодичний біль у животі тощо. Під час виписки хворому призначено амоксицилін із клавулановою кислотою. Рекомендовано провести повторний цикл хімієемболізації в тій самій клініці Німеччини 13.05.2024 р. У разі відмови від подальшого лікування в Німеччині таку процедуру рекомендовано виконати в Україні протягом наступних 5 тижнів, після чого провести контрольну візуалізацію за допомогою КТ органів грудної та черевної порожнини; надалі визначити доцільність продовження процедури TAXE. Якщо відповідна реакція не настане, рекомендована системна хімієтерапія.

Результати

Пацієнт звернувся до медичного центру хірургічних рішень «Дієво» 20.04.2024 р. зі скаргами, що наведені вище.

За результатами клінічного обстеження, лабораторних та інструментальних досліджень встановлено діагноз: метастазування карциноми підшлункової залози в печінку (ED 02/22) – pT3bN2(11/36) cM1 (HEP) LI VI Pn1 Ri; абсцеси сегментів VI, VII печінки; асцит; двобічний гідроторакс; септичний стан; субкомпенсована непрохідність кишечника.

Призначено інтенсивну антибактеріальну, інфузійну, симптоматичну терапію. За результатами виконаного 24.04.2024 р. УЗД припустили, що в підпечінковому та піддіафрагмовому просторах виник запальний процес. Тому 25.04.2024 р. пацієнтові здійснили мультиспіральну КТ органів черевної порожнини, заочеревинного простору та малого таза. Висновок: стан після панкреатодуоденальної резекції з приводу раку підшлункової залози, емболізації печінкових метастазів; КТ-ознаки абсцесів сегментів VI, VII печінки; гепатомегалія, портальна гіпертензія; асцит; двобічний гідроторакс. У сегментах VI, VII печінки визначено ділянку деструкції паренхіми неправильної форми, розмірами 126 × 105 × 72 мм, заповнену рідинним вмістом і газом. У портальну фазу контрастування в сегменті VIII печінки виявлено лінійну ділянку зниженої щільності без чітких контурів (ділянка гіпоперфузії). Решта паренхіми печінки, підпечінковий і піддіафрагмовий простори – без патологічних змін.

Консиліум спеціалістів ухвалив рішення про необхідність виконання хворому хірургічного втручання в такому обсязі: двобічний торакоцентез, лапароцентез, пункція та дренирування абсцесів VI, VII печінки.

В умовах операційної 26.04.2024 р. виконано двобічний торакоцентез. Видалено до 450 мл серозного вмісту зліва та до 550 мл справа з домішками фібрину. Плевральні порожнини дреновані за Бюлау, після чого виконано лапароцентез. З черевної порожнини евакуйовано 200 мл серозного вмісту також із домішками фібрину; черевна порожнина санована та дренована.

Надалі під контролем УЗД у десятому міжребер'ї по передньо-аксиллярній лінії хворому виконано пункцію та дренирування абсцесів печінки, локалізованих у сегментах VI та VII. Отримано до 150 мл і до 100 мл відповідно густого гною з вираженим гнилісним запахом, який передано для бактеріологічного дослідження. Абсцеси сановані та дреновані.

Під час ранкового огляду 27.04.2024 р. о 08:10 черговий лікар виявив гнійні виділення з дренажу черевної порожнини, лабораторно – підвищення рівня лейкоцитів до $13,25 \times 10^9/\text{л}$.

О 08:30 під час клінічного обстеження консиліум спеціалістів виявив у хворого гнійні виділення по дренажу з черевної порожнини, здуття живота та слабкопозитивні перитонеальні симптоми у його правих відділах. Ухвалили рішення про виконання операції лапаротомії за ургентними показаннями з остаточним визначенням обсягу хірургічного втручання інтраопераційно.

Після виконання серединної лапаротомії під час ревізії черевної порожнини у всіх її відділах виявлено 800 мл серозно-асцитично-гнійного вмісту; петлі тонкої та товстої кишок блискучі, без нашарувань фібрину. Шлунок, дванадцятипала кишка – без патології. Петлі тонкої кишки на 15–20 см дистальніше від раніше сформованого браунівського співустья розширені до 5 см у діаметрі по всій довжині, ободова кишка

– до 8–9 см у діаметрі до селезінкового згину, де виявлено виражений спайковий процес між петлями тонкої та ободової кишок з утворенням неповного перекруту однієї з петель тонкої кишки, що локалізувалась у дефекті брижі поперечної ободової кишки. Петля кишки життєздатна. Виконано вісцероліз, вивільнено напівперекручену петлю тонкої кишки.

Під час обстеження печінки виявлено підпечінковий і піддіафрагмовий абсцеси з нашаруваннями фібрину. Ділянка пункції гнійника правої частки печінки – без особливостей. У сегментах VI та VII печінки визначено щільні метастатичні осередки. Кукса хвоста підшлункової залози – без особливостей. Сформований раніше панкреатоентероанастомоз – без особливостей. Здійснили ретельну санацію ділянки піддіафрагмового та підпечінкового абсцесів антисептичними розчинами до чистого вмісту. Ушито дефект брижі поперечної ободової кишки. Виконано назоінтестинальну інтубацію кишечника до селезінкового згину ободової кишки з активною аспірацією кишкового вмісту та газів, надалі – ретельну заключну санацію черевної порожнини розчинами антисептиків. Під час операції здійснювали ретельний гемостаз. Виконано додаткове дренирування черевної порожнини чотирма поліхлорвініловими дренажами, заведеними через контрапертури по правому (над- і підпечінково) та лівому фланках (у ділянку селезінкового згину та по лівому фланку до малого таза). Рану поширено ушито, покладено асептичну пов'язку.

Отже, хірургічне втручання здійснили в такому обсязі: лапаротомія; ревізія органів черевної порожнини, її санація; ентеровісцероліз; ліквідація неповного перекруту петлі тонкої кишки; ушивання дефекту брижі поперечної ободової кишки; санація піддіафрагмового та підпечінкового абсцесів черевної порожнини із заведенням додатково 4 дренажів.

Результати лабораторного обстеження хворого від 27.04.2024 р.: лейкоцити – $13,5 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобін – 98,0 г/л, тромбоцити – $541 \times 10^9/\text{л}$, загальний білок – 54,0 г/л, білірубін прямий – 5,20 мкмоль/л, лужна фосфатаза – 135,1 Од/л, С-реактивний білок (кількісний) – 191,14 мг/л, прокальцитонін – 11,59 нг/мл.

Хворому призначено інтенсивну антибактеріальну, детоксикаційну, корегувальну та симптоматичну терапію, ретельну санацію гнійних осередків 3–4 рази на добу. У наступні дні динаміка клінічного перебігу післяопераційного періоду позитивна, покращилися результати лабораторного, інструментального обстежень. Також позитивною була динаміка загального стану пацієнта. Через дренаж, встановлений у підпечінковому просторі, виділилося майже 10 мл серозно-гнійних виділень, з піддіафрагмового простору – близько 20 мл. По дренажах із навколоселезінкового простору та малого таза – незначні серозні виділення. По правому плевральному дренажу виділилося 50–75 мл, по лівому – майже 70 мл серозних виділень. Окремі лабораторні показники мали позитивну динаміку: рівень прокальцитоніну знизився до 7,42 нг/мл, лейкоцитоз – до $10,6 \times 10^9/\text{л}$. Залишалися низькими рівні гемоглобіну – 97,0 г/л, загального білка – 51,2 г/л.

За результатами УЗД органів черевної порожнини від 13.05.2024 р., порожнини піддіафрагмового та підпечінкового абсцесів не візуалізовано. Виявлено асцитичну рідину в черевній порожнині в усіх відділах. У правій плевральній

порожнині вільної рідини під час огляду не виявлено, у лівій – майже 200 мл.

Хворий завершив стаціонарне лікування 14.05.2024 р. (18 доба після операції) у задовільному стані, з нормальною температурою тіла; виписаний для наступного амбулаторного лікування та спостереження в лікарня-онколога поліклініки за місцем проживання.

Діагноз під час виписки з клініки (14.05.2024 р.): стан після комбінованого хірургічного (панкреатодуоденальна резекція) лікування та поліхіміотерапії з приводу карциноми підшлункової залози (ED 02/22) – рТ3bN2(11/36) cM1 (HEP) LI VI Pn1 R1, емболізації метастазів печінки; абсцеси сегментів VI, VII печінки; двобічний гідроторакс; сепсис; піддіафрагмовий і підпечінковий абсцеси із самостійним розкриттям у черевну порожнину; поширений гнійний перитоніт; хронічна тонко-товстокишкова спайкова непрохідність у стадії субкомпенсації з неповним перекутом тонкої кишки у дефекті брижі поперечної ободової кишки.

Обговорення

Одним із досить ефективних методів лікування метастазів раку підшлункової залози в печінці є TAXE, що добре поєднується з іншими методами локальної деструкції зляканої пухлини – стереотаксичною променевою терапією та радіочастотною абляцією. Це дає підстави визначати цей метод як важливу складову комплексного лікування хворих із метастатичним раком різних локалізацій.

Методика виконання процедури TAXE чітко визначена. Проте, беручи до уваги інвазивність втручання у поєднанні з тяжким соматичним станом переважної більшості таких хворих, а також складні порушення імунного статусу та інші чинники, загроза виникнення вкрай тяжких локальних ускладнень після неї є реальною.

Особливої значущості набуває проблема запобігання виникненню запальних і гнійно-септичних ускладнень, їх своєчасної діагностики й адекватного лікування. Наслідком імовірного інфікування метастатичних пухлин під час процедури TAXE може стати розвиток абсцесів печінки, підпечінкового та піддіафрагмового просторів, що зазвичай ускладнені двобічним реактивним плевритом. Суттєво погіршує хірургічну ситуацію хронічна спайкова хвороба (внаслідок виконання первинного радикального хірургічного втручання).

Висновки

1. TAXE – доволі успішний інтервенційний метод лікування метастатичних пухлин різної локалізації. Виконання цієї процедури потребує чіткого дотримання правил асептики й антисептики, ретельного клінічного спостереження за хворим із виконанням контрольних лабораторних та інструментальних (УЗД, КТ тощо) досліджень для своєчасної діагностики, локальної санації запальних і гнійних осередків, комплексної інтенсивної антибактеріальної, дезінтоксикаційної терапії, корегування порушень імунного статусу тощо.

2. У своєчасній діагностиці гнійно-септичних ускладнень у зоні виконання TAXE (печінка, підпечінковий і піддіафраг-

мовий простори тощо) малоінформативними можуть бути навіть інструментальні дослідження, як-от УЗД, МРТ. Це зумовлює необхідність ретельного клінічного спостереження за пацієнтом та комплексного оцінювання стану його здоров'я.

Відомості про авторів:

Абу Шамсія Р. Н., канд. мед. наук, доцент, зав. хірургічного відділення, ТОВ «ДІЄВО Центр хірургічних рішень», м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2334-5012

Захараш Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. хірургії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2176-8441

Information about the authors:

Abu Shamsia R. N., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Surgery Department, Dievo Center For Surgery Decisions, Limited Liability Company, Kyiv, Ukraine.

Zakharash Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Surgery No. 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

References

- Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet*. 2011;378(9791):607-20. doi: [10.1016/S0140-6736\(10\)62307-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62307-0)
- Bondar HV, Shevchenko AI, Halaichuk II, editors. [Oncology]. 2nd ed. Kyiv: VSV "Medytsyna"; 2019. Ukrainian.
- Fiore F, Del Prete M, Franco R, Marotta V, Ramundo V, Marciello F, et al. Transarterial embolization (TAE) is equally effective and slightly safer than transarterial chemoembolization (TACE) to manage liver metastases in neuroendocrine tumors. *Endocrine*. 2014;47(1):177-82. doi: [10.1007/s12020-013-0130-9](https://doi.org/10.1007/s12020-013-0130-9)
- Maire F, Lombard-Bohas C, O'Toole D, Vullierme MP, Rebours V, Couvelard A, et al. Hepatic arterial embolization versus chemoembolization in the treatment of liver metastases from well-differentiated midgut endocrine tumors: a prospective randomized study. *Neuroendocrinology*. 2012;96(4):294-300. doi: [10.1159/000336941](https://doi.org/10.1159/000336941)
- Engelman ES, Leon-Ferre R, Naraev BG, Sharma N, Sun S, O'Dorisio TM, et al. Comparison of transarterial liver-directed therapies for low-grade metastatic neuroendocrine tumors in a single institution. *Pancreas*. 2014 Mar;43(2):219-25. doi: [10.1097/MPA.0000000000000030](https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000030)
- de Baere T, Deschamps F, Tselikas L, Ducreux M, Planchard D, Pearson E, et al. GEP-NETS update: Interventional radiology: role in the treatment of liver metastases from GEP-NETs. *Eur J Endocrinol*. 2015 Apr;172(4):R151-66. doi: [10.1530/EJE-14-0630](https://doi.org/10.1530/EJE-14-0630)